

LIBÂNIA LIMA RIBEIRO

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE EPIGALOCATEQUINA-3-
GALATO E SIBUTRAMINA
EM RATOS WISTAR COM OBESIDADE INDUZIDA**

Recife

2016

LIBÂNIA LIMA RIBEIRO

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE EPIGALOCATEQUINA-3-
GALATO E SIBUTRAMINA
EM RATOS WISTAR COM OBESIDADE INDUZIDA**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós- Graduação em
Patologia do Centro de Ciências da
Saúde da Universidade Federal de
Pernambuco, para obtenção do
título de Mestre em Patologia.

Linha de pesquisa: Aspectos
Biotecnológicos e Microbiológicos
aplicados à Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio

Co-orientadores: Profa. Dra. Elizabeth Nascimento

Profa. Dra. Eulália Ximenes

Recife

2016

Catálogo na Publicação (CIP)
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

R484e Ribeiro, Libânia Lima.
 Estudo comparativo entre epigallocatequina-3-galato e sibutramina em
 ratos wistar com obesidade induzida / Libânia Lima Ribeiro. – 2016.
 114 f.: il.; tab.; gráf.; 30 cm.

 Orientadora: Liriane Baratella Evêncio.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco,
 CCS. Pós-graduação em Patologia. Recife, 2016.
 Inclui referências e anexos.

 1. Chá verde. 2. Camellia sinensis. 3. Dieta hiperlipídica. 4.
 Sobrepeso. I. Evêncio, Liriane Baratella (Orientadora). II.
 Título.

617.6 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS2016-058)

**DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
MESTRE EM PATOLOGIA.**

AUTORA: Libânia Lima Ribeiro

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Patologia

NOME DA DISSERTAÇÃO: **“Estudo Comparativo Entre
Epigallocatequina-3-Galato e Sibutramina em Ratos Wistar com Obesidade
Induzida”.**

ORIENTADORA: Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio

DATA DA DEFESA E APROVAÇÃO: 26 de fevereiro de 2016

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Manuela Figueroa Lyra de Freitas

Profa. Dra. Claudia Fernanda de Lacerda Vidal

Profa. Dra. Adriana Di Donato Chaves

*“Dedico este trabalho aos meus filhos Marcela e Gabriel,
maravilhosos presentes de Deus em minha vida”.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pai todo poderoso, criador das coisas possíveis e impossíveis, como estar aqui agradecendo a presença de sua mão na minha e dos anjos postos em meu caminho.

À Universidade Federal de Pernambuco, por ter me acolhido no curso de Medicina em 1979-1985 e no atual Programa de Pós-graduação com os seus professores e coordenadores, possibilitando apoio para aquisição de novos conhecimentos e crescimento pessoal.

Ao Departamento de Nutrição da UFPE, por ter disponibilizado a estrutura do biotério para o nosso trabalho.

À minha mãe Adelise e meu pai Oséas (*in memorian*), exemplos de sabedoria e dedicação.

Ao meu esposo Marcelo, pelo apoio e carinho.

À minha irmã Lucy, pelo estímulo e apoio sempre.

A todos os colegas da turma de mestrado, em especial, minhas grandes amigas, Isabella, Maria Leonilda, Tamires e Cleidiane, que serviram de alento nos meus momentos de tormenta.

Às minhas admiráveis orientadoras, Profa. Dra. Liriane e Profa. Dra. Elizabeth, pela ajuda, mesmo durante férias e feriados. Foi muito bom ter o apoio incondicional de vocês.

À minha professora da pós-graduação, Profa. Dra. Adriana Di Donato, profundidade e palavras sábias de quem já trilhou o mesmo caminho: “Aceite toda ajuda que puder”. Aceitei!

À banca examinadora, pelas correções e sugestões.

Ao aluno de nutrição, Gutemberg, pela ajuda fundamental nas práticas e por seu carinho no trato com animais.

Às grandiosas funcionárias da pós-graduação, Margarete e Silvania, tesouros na terra, prestativas, conselheiras e AMIGAS.

Ao amigo e veterinário do biotério de nutrição, Sr. França, exemplo de trabalho, dedicação e ensinamentos valiosos.

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, conseguiram fazer dos nossos objetivos gerais e específicos resultados científicos.

Muito obrigada por fazerem parte desta minha inesquecível trajetória!

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes.”

Isaac Newton

RESUMO

A obesidade é uma das doenças mais estudadas no mundo, tendo em vista seu crescente aumento e envolvimento em várias comorbidades. Nesse contexto, o presente trabalho visa avaliar a substância epigallocatequina-3-galato (EGCG), a catequina mais ativa da planta *Camellia sinensis*, no emagrecimento de ratos após indução de obesidade com dieta ocidentalizada, assim como comparar seu efeito com o da sibutramina. O estudo foi realizado através de método experimental comparativo controlado, desenvolvido no biotério de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, no período de fevereiro de 2015 a janeiro de 2016. Para tal, foram utilizados 32 ratos Wistar machos, procedentes de cria habitual e manipulada, para compor quatro grupos de oito ratos, a saber: grupo controle salina (CSAL) grupo controle, proveniente de cria habitual, que fez uso da dieta Presence® e foi tratado com NaCl 0,9%; grupo ocidentalizado salina (OSAL), obeso, cria reduzida, alimentado com dieta ocidentalizada e tratado com NaCl 0,9%; grupo ocidentalizado sibutramina (OSIB), obeso, cria reduzida, alimentado com dieta ocidentalizada e tratado com sibutramina 7,5 mg/Kg e o grupo ocidentalizado epigallocatequina-3-galato (OEGCG), obeso, cria reduzida, alimentado com dieta ocidentalizada e tratado com EGCG 50mg/Kg/dia. Ao atingir o fenótipo obeso e findar oito dias de tratamento, foram observados dados murinométricos, consumo alimentar, exames hematológicos e histológicos de fígado, rins e coração. Os resultados obtidos mostraram que os grupos OSIB e OEGCG apresentaram importante queda no consumo alimentar e peso corporal. O trabalho mostrou que a EGCG não apresentou toxicidade para os animais e foi capaz de reduzir significativamente o peso dos ratos obesos com intensidade comparável à da sibutramina, além de prevenir ou promover regressão de esteatose hepática e esteato hepatite.

Palavras-chave: Chá verde. *Camellia sinensis*. Dieta hiperlipídica. Sobrepeso.

ABSTRACT

Obesity is one of the most studied diseases in the world, given its increasing involvement in various comorbidities. In this context, this study aims to evaluate the epigallocatechin-3-gallate (EGCG), *Camellia sinensis*'s most active catechin, in weight loss of rats after an obesity induction with occidentalized diet, as well as to compare its effect with sibutramine's. The study was made through a controlled comparative experimental method, developed at the nutrition vivarium of the Federal University of Pernambuco, between February 2015 and January 2016. For that matter, 32 male Wistar mice were used, coming from a manipulated and standard spawn, to compose four groups of eight mice, namely: saline control group (CSAL), coming from a standard spawn, which made use of Presence® diet and was treated with NaCl 0.9%; saline occidentalized group (OSAL), obese, fed with westernized diet and treated with NaCl 0.9%; sibutramine occidentalized group (OSIB), reduced spawn, fed with occidentalized diet and treated with sibutramine 7.5 mg/Kg; and epigallocatechin-3-gallate occidentalized group (OEGCG), reduced spawn, fed with occidentalized diet and treated with EGCG 50 mg/Kg/day. Upon reaching the obese phenotype and completing eight days of treatment, murinometric data, food consumption, hematological and histological tests of liver, kidney and heart were observed. The results reported that groups OSIB and OEGCG demonstrated significant decrease in food consumption and weight. A biochemical and histological evaluation of the animals showed no toxicity of the drugs, after the treatment period. The study found that EGCG showed no toxicity in animals and that it was able to significantly reduce the weight of obese mice with intensity comparable to sibutramine's, as well as to prevent or promote regression of hepatic steatosis and steatohepatitis.

Keywords: Green tea. *Camellia sinensis*. Fat diet. Overweight.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão de Literatura

Figura 1- <i>Camellia sinensis</i> (folhas).....	21
Figura 2- Representação molecular das catequinas mais abundantes no chá verde.....	23
Figura 3- Distribuição dos tipos de dieta por grupo de ratos.....	36
Figura 4- Distribuição dos grupos após desmame.....	37

Artigo original

Figura 5- Acompanhamento do peso corporal durante a lactação segundo a manipulação do número de filhotes por ninhada e uso de dieta.....	59
Figura 6- Acompanhamento semanal do peso corporal após o desmame dos ratos. Evolução dos quatro grupos: CSAL (controle salina). OSAL (ocidentalizada salina). OSIB (ocidentalizada sibutramina). OEGCG (ocidentalizada epialocatequina-3-galato).....	60
Figura 7- Peso corporal durante o tratamento de oito dias com salina, sibutramina ou Epigallocatequina-3-galato.....	61
Figura 8- Valores da Circunferência torácica, antes (A) e depois dos tratamentos (B).....	62
Figura 9- Valores da circunferência abdominal antes (A) e depois dos tratamentos (B).....	62
Figura 10- Valores de IMC antes (A) e depois dos tratamentos (B).....	63
Figura 11- Consumo alimentar dos roedores. (A) Consumo de alimento durante 17 semanas após desmame. (B) consumo diário durante oito dias de tratamento.....	64
Gráfico 12- Consumo alimentar durante oito dias de tratamento.....	65
Figura 13- Fotomicrografias de porções de fígado dos animais do grupo CSAL.....	68
Figura 14- Fotomicrografias de porção de fígado de animais do grupo OSAL.....	69
Figura 15- Fotomicrografias de porções de fígado de animais do grupo OSIB.....	70
Figura 16- Fotomicrografias de porções de fígado de animais do grupo OEGCG.....	71

LISTA DE TABELAS

Revisão de Literatura

Tabela 1- Classificação do estado nutricional de acordo com IMC.....	30
Tabela 2- Complicações da obesidade.....	32
Tabela 3- Benefícios clínicos da redução de 10 kg do peso.....	33
Tabela 4- Grupos experimentais de dietas e tratamentos após período de desmame.....	37
Tabela 5- Dieta para roedores – Presence®.....	39
Tabela 6- Dieta hiperlipídica – Composição e contribuição calórica dos macronutrientes da dieta ocidentalizada.....	39

Artigo original

Tabela 7- Variação percentual do peso corporal antes e depois da aplicação das drogas ou salina por oito dias.....	61
Tabela 8- Variação percentual do consumo alimentar durante oito dias de uso das drogas ou salina.....	64
Tabela 9- Valores bioquímicos de ratos após 8 dias consecutivos de tratamento com salina, sibutramina e Epigallocatequina-3-galato.....	66
Tabela 10- Peso dos órgãos dos ratos após 8 dias de tratamento consecutivos com salina, sibutramina e Epigallocatequina-3-galato.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABESO	Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade
A.C./ a.C.	Antes de Cristo
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ANOVA	Análise de Variância
CCB	Centro de Ciências Biológicas
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
COBEA	Colégio Brasileiro para Experimentação Animal
COMT	Catecol O-Metiltransferase
CONCEA	Conselho Nacional de Experimentação Animal
CSAL	Controle Salina
DCNT	Doença Crônica Não Transmissíveis
DL50	Dose Letal 50
DE50	Dose Efetiva 50
DNT	Dinitrosamina
EC	Epicatequina
ECG	Epicatequina galato
EGC	Epigallocatequina
EGCG	Epigallocatequina3-galato
EPM	Erro Padrão da Média
ERKs	Quinases Extracelulares- Reguladas por sinais
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina

IMC	Índice de Massa Corporal
MAP	Proteína Ativadoras de Mitógenos
NaCl	Cloreto de sódio
OEGCG	Ocidentalizado Epigallocatequina galato
OMS	Organização Mundial de Saúde
OSAL	Ocidentalizado Salina
OSIB	Ocidentalizado Sibutramina
PC	Perímetro da Cintura
POF	Pesquisa do Orçamento Familiar
RCE	Relação Cintura/estatura
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SBCBM	Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica
SBEM	Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO.....	16
1.1. Caracterização do problema.....	16
1.2. Justificativa.....	18
1.3. Hipóteses.....	19
1.4. Objetivos.....	20
1.4.1. Objetivo geral.....	20
1.4.2. Objetivos específicos.....	20
2. REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1. <i>Camellia sinensis</i>	21
2.1.1. Origem e importância.....	21
2.1.2. Composição do chá verde.....	22
2.1.3. Definição e preparo do chá	24
2.1.4. Efeitos adversos atribuídos ao chá verde.....	25
2.1.5. Toxicidade de produtos naturais.....	25
2.1.6. As catequinas: mecanismo de ação.....	26
2.2. Sibutramina – mecanismo de ação.....	27
2.3. Obesidade.....	28
2.3.1. Definição de obesidade e epidemiologia.....	28
2.3.2. Diagnóstico da obesidade.....	29
2.3.3. Etiologia e fisiopatologia da obesidade.....	30
2.3.4. Obesidade associada a várias doenças.....	31
3. METODOLOGIA.....	34
3.1. Local do estudo	34
3.2. Período de referência.....	34
3.3. Tipo de estudo.....	34
3.4. Animais de estudo e delineamento experimental.....	34
3.5. Dietas.....	38
3.6. Tratamentos.....	39
3.7. Medidas murinométricas.....	40
3.7.1. Pesagem dos animais.....	40
3.7.2. Comprimento nasoanal, perímetro abdominal e torácico.....	40
3.7.3. Índice de massa corporal (IMC).....	40
3.8. Consumo alimentar.....	40

3.9. Dosagens bioquímicas.....	41
3.10. Estudo morfológico.....	41
3.11. Método de Análise Estatística.....	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1. Artigo original.....	43
5. CONCLUSÕES.....	78
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
REFERÊNCIAS.....	80
ANEXO A - Parecer da Comissão de Ética no uso de Animais do Centro de Ciências da Saúde da UFPE CEUA-UFPE).....	91
ANEXO B – Dieta Presence®, tabela nutricional, laboratório Purina.....	92
ANEXO C – Dietas ocidentalizadas: crescimento e manutenção (CAVALCANTE <i>et al.</i> , 2013)	93
ANEXO D – Certificado de Análise da EGCG. Laboratório Aktin Chemicals.....	97
ANEXO E – Ficha de informações de segurança de produtos químicos- Sigma-Aldrich.(Data da revisão: 22.02.2011).....	98
ANEXO F -- Aparelho analisador dosagens bioquímicas. AU680 Chemistry Analyzer- Beckman Coulter (site)	104
..	
ANEXO G – Exames bioquímicos dos animais realizados no hospital das Clínicas. Unidade de laboratório – ULAB/HC	108
ANEXO H – Tabela. Parâmetros bioquímicos de ratos Wistar de ambos os gêneros. Valores expressos em média e desvio padrão por faixa de valores (mínimo e máximo)(n)- número de animais (LIMA <i>et al.</i> , 2014).....	114

1. APRESENTAÇÃO

1.1. Caracterização do problema

A prevalência de obesidade vem aumentando consideravelmente, tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento constituindo, assim, um importante desafio para a saúde pública (NISSEN et al., 2012). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em seu relatório de estatísticas mundiais de saúde, a obesidade é causa de morte de 2,8 milhões de pessoas por ano por doenças associadas. Ainda em referência ao mesmo relatório, em todas as regiões do mundo, a obesidade duplicou seu quantitativo no período de 1980 a 2008. Uma concentração maior de obesos se encontra na América do Norte, abrangendo em torno de 26% da população (ABESO, 2012).

Convive-se com dados alarmantes de morbimortalidade por doenças relacionadas ao excesso de peso, chegando esta a dois terços de todos os óbitos no mundo (ABESO, 2012). A obesidade e o sobrepeso aumentaram tanto em adultos como em crianças, segundo pesquisas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011).

Inquéritos realizados pelo IBGE, no período de 1989 a 2009, demonstraram um crescimento impactante do número de obesos na população brasileira. No Brasil, através da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) de 2008-2009, realizada em parceria com o IBGE, foi observado que 50% dos homens e 48% das mulheres apresentavam excesso de peso, sendo encontrada obesidade em 12,5% dos homens e 16,9% das mulheres (IBGE, 2011).

Existem algumas linhas de tratamento para a obesidade, entretanto, com pouca efetividade, tendo em vista que grande parte dos medicamentos usados para controle da enfermidade foi retirada de comercialização, tais como as drogas derivadas das anfetaminas (femproporex, anfepramona e manzidol), que tiveram seus registros suspensos pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) (ABESO, 2011), devido a preocupantes efeitos colaterais relacionados, principalmente, ao coração e pulmão (ANVISA, 2014). Apesar disso, ainda permanece a comercialização da sibutramina, mas com sérias restrições. Sendo uma doença crônica, progressiva, com comportamento recidivante e associada a fatores genéticos, neuroendócrinos, ambientais, psicológicos e sociais, a obesidade torna-se muito difícil de ser controlada permanentemente (NISSEN et al., 2012).

Um tratamento não medicamentoso muito procurado pela população, para aqueles com pesos extremos, é a cirurgia bariátrica e suas variantes. Segundo a Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabologia (SBCBM), a referida cirurgia tem crescido muito,

chegando a triplicar nos últimos cinco anos no Brasil, sendo esse o segundo país que mais realiza esse tipo de cirurgia atualmente (SBCBM, 2011).

Mesmo com avanços das intervenções e tentativas de várias dietas modificadas, observa-se a obesidade vencendo vários obstáculos e permanecendo imponente. Assim, muitos estudos têm investido em pesquisas de alimentos, produtos alimentícios e outros compostos que possam fazer parte do dia a dia das pessoas, que sejam de fácil acesso e efetivos na redução ou manutenção do peso adequado. Muitos estudos epidemiológicos têm demonstrado que alguns tipos de alimentos podem reduzir risco de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010).

Nesse contexto, vale salientar a existência de uma planta nativa do sul da Ásia, pertencente à cultura chinesa e usada há mais de cinco mil anos nesse país, denominada *Camellia sinensis*, cujo chá parece possuir muitas propriedades anti-inflamatórias, anticancerígenas (FREITAS; NAVARRO, 2007; SUEOKA *et al.*, 2001) e antiobesidade (FREITAS; NAVARRO, 2007; LIN; LIN-SHIAU, 2006), além de sua principal ação antioxidante (LUIS; ALLER, 2008; COOPER; MORRÉ; MORRÉ, 2005; BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997).

O presente estudo visa colaborar no entendimento do uso da *Camellia sinensis* como aliada no tratamento da obesidade. Para isso, utilizamos o bioativo mais importante da planta que é a epigallocatequina galato (EGCG), que será comparada com a sibutramina, droga já bem estabelecida em sua indicação.

1.2. Justificativa

A obesidade se tornou um grave problema de saúde pública mundial e vem crescendo muito nas últimas décadas. O cenário é preocupante, tendo em vista o grande número de condições mórbidas indexadas ao processo de ganho de peso. O tecido adiposo é um órgão dinâmico e reativo que secreta vários fatores que interferem no metabolismo de regulação energética, atividade inflamatória e imunológica. O crescente interesse em encontrar alguma substância que consiga controlar a progressão da obesidade e suas consequências levou a uma maior concentração de esforços para entender melhor os alimentos funcionais.

Assim, o chá verde, com baixo custo e de fácil acessibilidade, vem se tornando alvo de grandes estudos na atualidade, já sendo de uso corrente em muitos países, principalmente sul-asiáticos. Medicamentos disponíveis para o uso atual, como a sibutramina, que é uma droga antiobesidade já bem estabelecida, têm mostrado grande número de efeitos colaterais, principalmente com uso prolongado, tais como: aumento da pressão arterial, aumento da frequência cardíaca, enfarte do miocárdico, acidente vascular cerebral, distúrbios do sono, amnésia, insônia, entre outros. Com uso crônico, apresenta frequente ocorrência de taquifilaxia (tolerância) (ARAÚJO; MARTEL, 2012).

Provavelmente, ainda não há estudos comparativos da sibutramina com a *Camellia sinensis* nem com seus componentes bioativos (não foram encontrados durante o presente estudo). A epigallocatequina-3-galato, por ser a substância de maior valor biológico da planta e por largas referências na literatura quanto a sua propriedade antiobesidade (HUNG *et al*, 2005) (NAGÃO *et al*, 2005), se prestaria ao presente estudo comparativo com droga de ação antiobesidade comprovada.

1.3. Hipóteses

- ✚ O uso da epigallocatequina-3-galato promove emagrecimento em ratos obesos, com a mesma intensidade que a sibutramina, mas sem causar efeitos tóxicos.
- ✚ O modelo proposto de obesidade, idealizado no presente estudo, com o intuito de conseguir sobrepeso precoce nos ratos, antes mesmo do terceiro mês de vida, é atingido com a manipulação da cria (cria reduzida), dieta ocidentalizada variada e suplementada com sacarose.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo geral:

- Verificar o efeito da epigallocatequina-3-galato na redução de peso em rato obesos e compará-la à sibutramina.

1.4.2. Objetivos específicos:

- Observar o efeito da ninhada manipulada (ninhada reduzida) e dieta ocidentalizada suplementada com solução de sacarose a 10% em promover obesidade em curto período de tempo.
- Comparar o consumo alimentar, peso e dados murinométricos antes e após o uso das drogas sibutramina e EGCG.
- Verificar, bioquímica e histologicamente, ocorrência de efeitos tóxicos cardíaco, hepático e renal com o uso das duas substâncias.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Camellia sinensis*:

2.1.1. Origem e importância

A *Camellia sinensis* pertencente à família Theaceae, gênero *Camellia*, e é amplamente cultivada no sul da Ásia, em vários países como China, Índia, Japão, Tailândia, Sri Lanka e Indonésia (SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010), sendo bastante utilizada na elaboração de chás. A *C. sinensis*, durante seu crescimento, pode atingir cerca de quatro metros de altura e formar arbustos, que são podados durante cultivo (FERRARA; MONTESANO; SANATORE, 2001) (Figura 1). Originário da Ásia, a *Camellia sinensis* vem sendo utilizada na China há mais de cinco mil anos, sendo esse país o seu principal produto de chás. É a segunda bebida mais consumida no mundo, perdendo apenas para a água (SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010).

Figura 1- *Camellia sinensis* (folhas)



Fonte: Site: Flora of North America.

Durante muitos séculos até os dias atuais, o chá vem sendo considerado pelos orientais uma bebida com propriedades medicinais. O chá verde, uma das quatro variedades do chá originado da espécie *Camellia sinensis*, ao contrário do chá preto, não realiza o processo de fermentação. O chá *oolong*, outra variedade do chá dessa planta, sofre leve fermentação (SIMÕES *et al.*, 2001). Suas flores crescem curtamente pediculadas num cacho e são usadas para ornamentação. De suas sementes, pode ser retirado o óleo de camélia, que é comestível e também utilizado com finalidades cosméticas (SIMÕES *et al.*, 2003).

As investigações em populações asiáticas demonstram que o consumo diário do chá verde pode estar associado à diminuição dos riscos para doenças cardiovasculares. A medicina chinesa tradicional recomenda o consumo do chá, pois o considera uma bebida

benéfica à saúde, devido às suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anti-hipertensivas (BLOCK; PATTERSON; SUBAR, 1992), antidiabéticas e, ainda, antimutagênicas (SIMÕES *et al.*, 2003).

O chá verde, devido ao seu preparo, inibindo enzimas que degradam os polifenóis (TANAKA; MATSOU; KOUNO, 2010), possui maior quantidade de catequinas que outras variedades de chás derivados da *Camellia sinensis*. Existem no chá grandes quantidades de polifenóis, principalmente as catequinas, que são potentes substâncias antioxidantes. O extrato da folha seca da *Camellia sinensis* tem como principal componente bioativo a epigallocatequina-3- galato (EGCC), que seria responsável pelas ações benéficas do chá. Com finalidade de emagrecimento, deve ser consumida diariamente (HAN *et al.*, 2004).

Recentes estudos em humanos sugerem que o chá verde pode contribuir para a redução do risco de alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares, emagrecimento e, ainda, teria papel na proteção contra os raios ultravioletas e manutenção da densidade mineral óssea, dentre outras (SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010).

O uso do chá vem crescendo nos últimos anos. Hoje, é amplamente utilizado no mundo, chegando-se a um consumo mundial *per capita* de 120 ml/dia, perdendo apenas para a água (LAMARÃO; FIALHO, 2009).

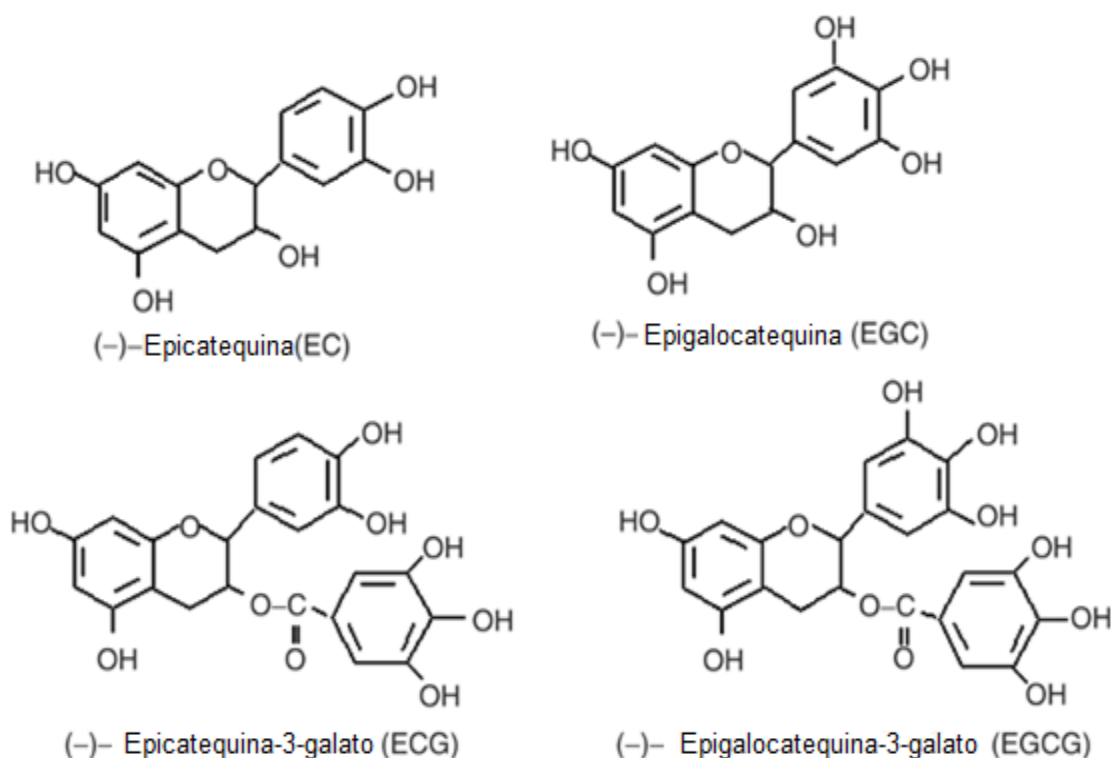
O crescente interesse em seus benefícios levou à inclusão do chá verde ao grupo de bebidas com propriedades funcionais. Alimentos funcionais são entendidos como aqueles que, além de atuarem como alimento, com qualidades nutricionais, possuem também a propriedade de reduzir riscos de ocorrência de algumas doenças crônicas (PIMENTEL; FRANCKI; GOLLUCKE, 2005). Entretanto, não se pode esquecer que o chá verde pode apresentar efeitos adversos à saúde (CRUZ *et al.*, 2010), como, por exemplo, a hepatotoxicidade, taquicardia e insônia (SENGER; SCHWAANKE; GOTTLIEB, 2010). A literatura não traz muitos estudos relacionados ao uso da *Camellia sinensis* no tratamento da obesidade, principalmente no que diz respeito à dose ideal e ao tempo de uso. Além disso, não há estudos comparativos com outras drogas antiobesidade.

2.1.2. Composição do chá verde

Na composição do chá verde, encontramos diversas substâncias, como os flavonóides, pigmentos, cafeína, carboidratos, aminoácidos, alguns micronutrientes, como as vitaminas B, C, E e sais minerais como cálcio, magnésio, zinco, potássio e ferro (SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010). Os flavonóides fazem parte de uma classe de compostos

polifenólicos produzidos por plantas originárias da via dos fenilpropanóides (DORNAS *et al.*, 2007). Os principais flavonóides contidos no chá são as catequinas (OYAMA, 2011). Existem quatro principais tipos de catequinas, que são a epigalocatequina (EGC), epicatequina (EC), epicatequina galato (ECG) e a epigalocatequina galato (EGCG), sendo essa última a mais abundante encontrada nas folhas da planta (SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010) (Figura 2). São essas substâncias as responsáveis pelas ações antioxidantes do chá (CARRATU; SANZANI, 2005). Os potenciais benefícios desses alimentos seriam a redução do risco de desenvolvimento das doenças crônicas não transmissíveis, tais como doenças cardiovasculares, obesidade e distúrbios metabólicos (HAN *et al.*, 2004).

Figura 2- Representação molecular das catequinas mais abundantes no chá verde.



Fonte: Disponível em: < <http://www.catequinas.weebly.com> >. Acesso em: 13/10/2015.

Estudos mostram que os flavonóides (catequinas) são os responsáveis pelas propriedades funcionais do chá no organismo. A quantidade de catequinas presentes no chá verde é aproximadamente de 26,7%, distribuídas nas concentrações: 11% de EGCG, 10% de EGC, 2% de ECG, 2,5% e 15% de polifenóis ainda não identificados (SCHMITZ *et al.*, 2005) (fig. 2). A EGCG é a que possui maior atividade antioxidante, responsável pela ação benéfica do chá (HASLER, 2002).

As catequinas são formadas estruturalmente por um núcleo tricíclico, os quais apresentam radicais hidroxilas ligadas aos seus anéis (SCHMITZ *et al.*, 2005). No chá verde já

foram identificadas cerca de doze catequinas, porém é a epigallocatequina-3-galato a que está em quantidades maiores e a responsabilizada por efeitos benéficos como hipocolesterolemia, redução de estresse oxidativo, atividade antimutagênica, antitumoral e hipoglicemiante (OYAMA, 2011).

2.1.3. Definição e preparo do chá

Segundo a ANVISA, em Resolução de Diretoria Colegiada (RDC), n ° 277,2005, os chás são definidos como:

“o produto constituído de uma ou mais partes de espécie(s) vegetal (is) inteira(s), fragmentada(s) ou moída(s), com ou sem fermentação, tostada(s) ou não, constantes de Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de Chás. O produto pode ser adicionado de aroma e ou especiaria para conferir aroma e ou sabor”. “O produto deve ser designado de "Chá", seguido do nome comum da espécie vegetal utilizada, podendo ser acrescido do processo de obtenção e ou característica específica. Podem ser utilizadas denominações consagradas pelo uso” (ANVISA, 2005).

A preparação do chá é feita, tradicionalmente, por infusão, com adição de água fervente à planta e abafado por dois a três minutos, ou por decocção por fervura da planta por dois a cinco minutos (ANVISA, 2005). Nem todas as espécies de plantas e nem todas as partes da planta podem ser utilizadas para o preparo do chá. As espécies vegetais e suas partes permitidas para esse fim estão estabelecidas na RDC (ANVISA, 2005).

Um típico preparo do chá seria usando um grama de folhas para 100 ml de água por três minutos de fervura. Nessas proporções teríamos cerca de 35 a 45 mg de catequinas para 100ml do chá (SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010) (HASLER, 2002).

É importante chamar a atenção para o fato de que, até o momento, não se tem uma precisão a respeito de dose, preparo e tempo de uso necessário para que o chá cumpra suas funções e se obtenha um bom efeito de seus componentes bioativos (CABRERA, ARTACHO; GIMENEZ, 2006). Entretanto, segundo proposta da *American Dietetic Association* (1999), o uso de quatro a seis xícaras ao dia seria importante para redução de risco de doenças como alguns cânceres gastrointestinais (WEISBURGER,1999).

O chá verde facilita a digestão dos alimentos e diminui não só o nível de lipídeos no sangue como também a gordura corporal, por isso é usado por pessoas que desejam reduzir o peso (HAN *et al.*, 2004). Segundo Vinson e Dabbagh (1998), as catequinas contidas no chá impediriam a hipertrigliceridemia pós-prandial, provavelmente por reduzir a capacidade de absorção dos triglicerídeos, aumentando, assim, sua excreção a nível intestinal por inibir a lipase pancreática. A absorção de colesterol também seria reduzida pelas catequinas (LOEST;

NOH; KOO, 2002). Também existem evidências de que a redução do apetite ocorra por mecanismos de interação entre as catequinas da *Camellia sinensis* e os receptores de leptina, com consequente aumento da saciedade alimentar (DULLOO *et al*, 2000; KAO; HIIPAKKA; LIAO,2000).

2.1.4. Efeitos adversos atribuídos ao chá verde

Alguns efeitos adversos relatados, principalmente com uso prolongado, foram a hepatotoxicidade, problemas gastrointestinais, insônia, nervosismo, hipertensão arterial, taquicardia, anorexia, entre outros (BARTELS; MILLER, 2003; SENGHER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010). Segundo os mesmos autores, esses efeitos foram atribuídos à presença da cafeína contida no chá. Entretanto, segundo Souza (2011); Bjorson e Olson (2007), a hepatotoxicidade geralmente é do tipo hepatocelular e de curso benigno, vista em poucos casos, provavelmente por se tratar de um método de extração das catequinas por preparos hidroalcoólicos. Ainda segundo o primeiro autor, a toxicidade pode sofrer influência de doenças hepáticas associadas ao uso de drogas concomitantes. Entretanto, o chá verde até poderia ter efeito de proteção hepática. Segundo observações de Schmitz *et al.* (2009), o uso de extrato de *Camellia sinensis* poderia ser usado como hepatoprotetor, mostrando que em ratos tratados com Dietilnitrosamina (DNT), um reconhecido agente lesivo e cancerígeno hepático, ocorreu atenuação da lipoperoxidação e necrose hepática provocada por DNT. O diagnóstico de hepatite, provocadas pelo uso de chás, torna-se difícil, pois muitas vezes os pacientes são assintomáticos ou apresentam sintomas discretos e alterações bioquímicas leves (SOUZA, 2011).

2.1.5. Toxicidade de produtos naturais

Todas as substâncias podem ser consideradas tóxicas em potencial a depender da dose e condições de exposição, mas podem ser seguras se respeitadas as condições de tolerância abaixo dos níveis considerados seguros (CASTRO, 1993). Além de provar a eficácia, um fitoterápico tem que possuir estudos toxicológicos pré-clínicos. A determinação da Dose Letal 50% (DL50), por qualquer via a ser selecionada para administração, servirá de subsídio para a escolha da Dose Eficaz 50 % (DE50). Os estudos toxicológicos pré-clínicos, de acordo com o período de exposição, podem ser dos tipos: agudo, doses repetidas, subcrônico e crônico (STASI, 1995).

De acordo com a OMS, muitos efeitos das drogas usadas em animais durante estudo experimental podem ser semelhantes na espécie humana, motivo do largo emprego de testes farmacológicos e toxicológicos em animais para determinação da eficácia e toxicidade. O estudo toxicológico para os fitoterápicos deverá ser feito com igual rigor técnico das drogas sintéticas ou semissintéticas.

Em relação à epigallocatequina-3-galato, substância purificada da *Camellia sinensis*, existe um grande grau de segurança para seu uso. Estudos indicam que a EGCG tem Dose oral Letal 50 (DL50) em torno de 2.500,00 mg/kg em ratos (HERBS-TECH, 2011) (Anexo A).

2.1.6. As catequinas: mecanismos de ação

As catequinas são fitos nutrientes da família dos polifenóis que têm uma forte ação antioxidante e são encontradas em vários alimentos. Muitos estudos focalizam também suas propriedades anti-inflamatória, anti-infecciosa, antiobesidade, antitumoral e antienvelhecimento (HAN, 2004). Estudos em ratos, com suplementação de catequinas, mostraram que são eficazes em reduzir obesidade, hipercolesterolemia e hiperglicemia, obtendo queda do colesterol de modo mais significativo que níveis glicêmicos (AHMAD *et al.*, 2015).

Dentre as catequinas do chá verde, a EGCG tem sido proposta como quimiopreventivo para obesidade, diabetes, câncer e doenças cardiovasculares. Entretanto, pouco se sabe sobre o seu mecanismo de ação no tecido adiposo (HUNG *et al.*, 2005). Alguns estudos indicam que as catequinas atuam inibindo a ação da enzima catecol-o-metiltransferase (COMT) levando ao prolongamento da ação das catecolaminas nas junções sinápticas, acarretando no aumento da termogênese (CHEN *et al.*, 2005).

Entretanto, Dulloo *et al.* (2000), descrevem que o papel termogênico das catequinas pode estar relacionado à associação da cafeína no chá. Possível mecanismo induzido pela EGCG na adipogênese seria o seu envolvimento na via de crescimento celular, que compreende a proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), especialmente as quinases reguladas por sinais extracelulares (ERK1), como aqueles que são estimulados por sinais de crescimento para o tecido adiposo. Foi demonstrado que a EGCG promove inibição da ERK1 (LIN; DELLA-FERA; BAYLE, 2005; HUNG *et al.*, 2005). Foi visto também que a EGCG pode ter um papel na regulação de várias enzimas relacionadas ao metabolismo lipídico, estando envolvidas a acetil CoA carboxilase, ácidos graxos sintetase, lipase pancreática, lipase

gástrica, lipoxantinaase (HUNG *et al.*, 2005; LIN; DELLA-FERA; BAYLE, 2005). Wang *et al.*, (2013) argumentam que, em estudos utilizando-se células tratadas com polifenóis, ocorre redução da variabilidade de adipócitos e da proliferação de pré-adipócitos, favorecendo a redução de triglicerídeos, lipólise e inflamação, bem como a redução de beta-oxidação.

Friedrich *et al* (2012) mostraram que os efeitos antiobesidade da EGCG podem ser explicados por uma diminuição na absorção intestinal de nutrientes, resultando num aumento da oxidação das gorduras pós-prandial a nível entérico e reduzindo a incorporação de lipídios da dieta nos tecidos.

Nagão *et al.* (2005) mostraram evidências de que o emagrecimento seria não apenas por gasto energético, mas também devido à redução da ingesta alimentar, que pode acontecer pela interação da EGCG com o receptor de leptina, o que aumentaria a saciedade, apesar de ainda controverso.

2.2. Sibutramina – mecanismos de ação

A sibutramina foi sintetizada em 1980 e utilizada em seres humanos quatro anos depois. Droga inicialmente usada para depressão, fora redirecionada para tratamento de obesidade após observação de perda de peso significativa nos usuários, firmando-se como saciogênico. Atua farmacologicamente inibindo a recaptação de serotonina, noradrenalina e, em menor grau, da dopamina em junção sináptica. Destaca-se, em comparação com as demais drogas antiobesidade, por não levar a um aumento compensatório desses neurotransmissores (SUCAR; SOUGEY; NETO, 2002). A sibutramina aumentaria também a liberação de neuropeptídeos anorexígenos e reduziria os orexígenos em núcleos hipotalâmicos. Teria, ainda, participação no aumento do gasto energético pela ativação dos receptores Beta 3 adrenérgicos no tecido adiposo (ARAÚJO; MARTEL, 2012). Sua administração em dose entre 10 e 15mg/dia, associadas a uma dieta hipocalórica e a atividades físicas, pode levar à redução de 5-10% da massa corporal (ARAÚJO; MARTEL, 2012). Segundo esses mesmos autores, normalmente observa-se, ao longo do tempo de uso, o chamado fenômeno de taquifilaxia, em que a substância reduziria seu poder de bloquear o apetite, levando ao retorno do peso perdido, uma vez que o cérebro vai se adaptando à nova condição imposta pela medicação.

Estudos mostram que a sibutramina pode atuar em distúrbios associados tanto à obesidade como à síndrome de ovários policísticos, à hipertrofia ventricular esquerda e a distúrbios de compulsão alimentar e obesidade na infância; porém, devido a questões de

segurança medicamentosa, tais como hipertensão arterial, aumento da frequência cardíaca entre outras, seu uso por período prolongado fica comprometido (TZIOMALOS; KRASSAS; TZOTZAS, 2009).

2.3. Obesidade

2.3.1. Definição de obesidade e epidemiologia

A obesidade é uma enfermidade muito antiga. No período Paleolítico (20.000 a 30.000 anos a.C.), já havia descrições e representações de formas humanas obesas. O excesso de peso era muito valorizado e cultuado, tendo em vista que, nessa época, a escassez de alimentos e consequente fome era uma ameaça constante. Passado o tempo, com a oferta de alimentos variados e palatáveis, as pessoas foram adquirindo hábitos alimentares obesogênicos, que, aliados à redução de atividade física, desequilibrava o balanço energético, criando, assim, o fenótipo obeso e suas consequências (NASCIMENTO; MOTA; ROCHA, 2014).

Segundo a OMS, a obesidade é definida pelo acúmulo de gordura anormal que pode prejudicar a saúde. Esse acúmulo de gordura corporal, em geral, tem tendência progressiva, levando a uma série de prejuízos à saúde física e, por vezes, também à saúde mental. A etiologia da doença ainda não está esclarecida; sabemos que existe uma soma de fatores genéticos e ambientais (PINHEIRO; FREITAS; CORSO, 2004). Ainda, segundo os mesmos autores:

A obesidade é considerada uma doença integrante do grupo de Doenças crônicas Não-Transmissíveis (DCNT), as quais são de difícil conceituação, gerando aspectos polêmicos quanto a sua própria denominação, seja como doenças não infecciosas, doenças crônicas degenerativas ou como doenças crônicas não transmissíveis, sendo essa última conceituação atualmente mais utilizada. As DCNT podem ser caracterizadas por doenças com história natural prolongada, múltiplos fatores de risco complexos, interação de fatores etiológicos desconhecidos, causa necessária desconhecida, especificidade de causa desconhecida, ausência de participação ou participação polêmica de microrganismos entre os determinantes, longo período de latência, longo curso assintomático, curso clínico em geral lento, prolongado e permanente. Manifestações clínicas com períodos de remissão e de exacerbação, lesões celulares irreversíveis e evolução para diferentes graus de incapacidade ou morte (PINHEIRO; FREITAS; CORSO, 2004).

As DCNT são as principais causas de morbimortalidade no mundo. Correspondem a 72% do total de mortes em países de América Latina (SILVA; COTTA; ROSA, 2013). Segundo os mesmos autores, apesar da gravidade e aumento de sua incidência, grande parte dessas doenças poderia ser evitada com consequente redução de sofrimentos e gastos exorbitantes pelo estado. A OMS, em seu relatório de estatísticas mundiais de saúde, afirma

que, no continente americano, 26% dos adultos estão obesos. Em contrapartida, no extremo oposto, está o sudoeste da Ásia com 3% de obesidade (ABESO, 2012). Ainda baseado no mesmo relatório, avaliando-se dados de 194 países, a estatística aponta que no período de 1980 a 2008 a obesidade duplicou, matando quase três milhões de pessoas a cada ano por suas doenças associadas, que são muitas vezes negligenciadas (ABESO, 2012).

No Brasil, como na maioria dos países do mundo, também encontram-se altas taxas de sobrepeso e obesidade. A Pesquisa do Orçamento Familiar (POF), realizada pelo IBGE em parceria com o Ministério da Saúde, o período de 2008 a 2009 aponta para um patamar de sobrepeso maior que 50% da população adulta masculina e 48% da feminina. Um dado muito preocupante, segundo a mesma pesquisa, é a prevalência muito elevada de sobrepeso, chegando a 36,6% das crianças na faixa etária de 5 a 9 anos. Em relação à população de adolescentes, os índices também cresceram, mas um pouco menos que os das crianças. Foi visto que entre os adolescentes o sobrepeso foi maior nas classes sociais mais altas e no sexo masculino (IBGE, 2010).

A transição alimentar vista nos últimos anos, na qual o consumo de alimentos cada vez mais refinados, aliado à redução de atividade física vem, por certo, contribuindo muito para o aumento na prevalência da doença (FRANCISCHI *et al.*, 2000).

Segundo a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM), quando se olha o comportamento da prevalência da obesidade, observa-se que ele está mais concentrado na população mais pobre e principalmente na região nordeste e nos grandes centros. Por outro lado, na região sudeste, onde há uma maior concentração de renda, ela tende a ser menor (SBEM, 2014). A obesidade sempre preocupa porque a doença geralmente vem acompanhada de morbidades como: hipertensão arterial, dislipidemias, doenças cardiovasculares, entre outras (JACKES; TIYO, 2012). A obesidade não representa apenas um problema científico e de saúde pública. Leva, também, ao envolvimento das indústrias de fármacos e alimentos modificados destinados a essa população, assim como o desenvolvimento de estratégias governamentais destinadas ao incentivo de atividades físicas e estímulos a bons hábitos de vida (FRANCISCHI *et al.*, 2000).

2.3.2. Diagnóstico da obesidade

O diagnóstico da obesidade pode ser feito primariamente por medidas antropométricas que podem ser usadas como ferramentas para identificar excesso de gordura. São frequentemente usadas pela sua simplicidade, baixo custo e por não terem invasibilidade.

Dentre as medidas usadas no diagnóstico de obesidade, sobressaem o índice de massa corporal (IMC), perímetro da cintura (PC) e a razão cintura-estatura (RCE) (PELEGRINI *et al.*, 2015). O IMC é o índice mundialmente utilizado e leva em conta a massa corporal em Kg pela estatura em metro quadrado (NOVELLI *et al.*, 2007) (Tabela 1). Esse índice, apesar de largamente aceito, deixa a desejar, já que na sua mensuração não leva em conta outras variáveis, como idade, sexo, estrutura musculoesquelética, e nem a distribuição da gordura corporal. Outras medidas deverão ser levadas em conta no diagnóstico da obesidade, tais como medida da prega cutânea tricipital ou análise de bioimpedância ou espectroscopia através de raios infravermelhos, que ajudariam nas limitações do IMC isoladamente (JACKES; TIYO, 2012).

Tabela 1- Classificação do estado nutricional de acordo com o IMC.

IMC	CLASSIFICAÇÃO
< 18,5 Kg/m ²	Baixo peso
18,5 – 24,9 Kg/m ²	Normal
25,0 – 29,9 Kg/m ²	Sobrepeso
30,0 – 34,9 Kg/m ²	Obesidade grau I
35,0 – 39,9 Kg/m ²	Obesidade grau II
40,0 ou > Kg/m ²	Obesidade grau III

Fonte: OMS, 1998.

A quantidade de tecido adiposo pode ser medida precisamente por tomografia computadorizada, densitometria, ressonância magnética e por método de bioimpedância. Esse último estima a quantidade de tecido adiposo através da avaliação da resistência e reatância a uma corrente elétrica de baixa frequência, tendo como valor de normalidade entre 20% e 30% para a mulher; 18% e 25% para o homem (ADAMS; MURPHY, 2000).

Diversos estudos têm mostrado a importância para a saúde da distribuição da gordura corporal, enaltecendo a associação de adiposidade central com o risco de doenças como diabetes, doenças cardiovasculares e cerebrovasculares. Desta forma, o IMC não deveria ser utilizado isoladamente como medida antropométrica, devendo ser consideradas outras medidas como PC, RCE, entre outras (MARTINS; MARINHO, 2003).

2.3.3. Etiologia e fisiopatologia da obesidade.

A obesidade é uma doença crônica com etiologia multifatorial. Diversas causas são apontadas como responsáveis pelo excesso de peso: dieta hipercalórica, estilo de vida

sedentário, fármacos, fatores genéticos, fatores endócrinos, transtorno alimentar, entre outros (JACQUES; TIYO, 2012).

Há diversos mecanismos que participam do apetite e ingestão alimentar, no padrão de armazenamento do tecido adiposo e no desenvolvimento de resistência insulínica. Desde a descoberta da leptina, foram estudados muitos outros mediadores, como a grelina, a insulina, a orexina, a colecistocinina e a adiponectina. Nos indivíduos obesos a leptina se encontra cinco vezes mais elevada que em magros (CONSIDINI; SINHA; HEIMAN, 1996). As mulheres têm maiores níveis de leptina que homens (FRIEDMANN; HALAAS, 1998; ROMERO; ZANESCO, 2006). As adipocinas são mediadores produzidos pelos adipócitos e acredita-se estarem relacionadas com diversas doenças da obesidade (REDINGER, 2007).

A leptina e a grelina atuam juntas na relação do apetite. A grelina, produzida pelo estômago vazio, regula o apetite em curto prazo. A leptina, produzida pelos adipócitos, regula o apetite em longo prazo. Quando a reserva de adipócitos está baixa, ocorre aumento desse mediador, com posterior redução de sua produção comparada ao aumento da massa gordurosa (FILIER, 2004). No ser humano, o gene da leptina se encontra localizado no cromossoma 7q31, sendo produzida essencialmente pelo tecido adiposo branco (FRIEDMANN; HALAS, 1998). Embora a grelina e leptina sejam produzidas em tecidos periféricos, elas vão atuar no sistema nervoso central a nível hipotalâmico. No hipotálamo existem sistemas reguladores do apetite, sendo o melanocortina o melhor estudado até o momento (SANDOVAL; DAVIS, 2003; REDINGER, 2007).

A literatura mostra grandes listas de métodos para o desenvolvimento de obesidade em animais de experimentação, como o uso de medicações, manipulação genética, ooforectomia, cirurgias hipofisárias, dietas palatáveis e tantos outros (SANTOS *et al*, 2010). Mudar o instinto animal, fazendo-o evoluir da fome (carência alimentar) para o apetite (desejo alimentar) não é tarefa fácil.

2.3.4. Obesidade associada a várias doenças.

A obesidade tem sido apontada como o maior componente da síndrome metabólica. Descrita por Reaven em 1988, a síndrome metabólica seria composta por obesidade, resistência a insulina, hipertensão arterial, diabetes tipo 2 ou intolerância a glicose, hiperinsulinemia e dislipidemia (ARANTES, 2006). Todos esses fatores promovem o aparecimento da aterosclerose e alterações vasculares levando ao aumento dos índices de morbimortalidade no mundo (ARANTES, 2006).

Ainda segundo Francischi *et al.* (2000), estão presentes percentuais de complicações importantes ligados à obesidade:

Comparando com pessoas de peso normal, homens com 20% acima do peso desejável têm 20% a mais de chance de morrer por todas as causas; possuem o risco duas vezes maior de falecer por diabetes; têm 40% a mais de chance de desenvolver disfunções na vesícula biliar e 25% a mais de doenças coronarianas. Em homens com 40% acima do peso desejável, a mortalidade por todas as causas é 55% maior, apresentam 70% a mais de chance de desenvolver doenças coronarianas, e o risco de morte por diabetes é quatro vezes maior do que entre pessoas de peso normal (FRANCISCHI *et al.*, 2000).

A obesidade pode levar o indivíduo a conviver com várias doenças. Existem complicações para quase todos os sistemas orgânicos (FRANCISCHI *et al.*, 2000). Os mecanismos subjacentes a todas essas doenças são complexos e podem estar inter-relacionados. A obesidade acentuada predispõe a hipoventilação pulmonar, doença degenerativa articular, resistência à insulina, dislipidemias, trombozes, acidente vascular cerebral e, provavelmente, a muitos cânceres (Tabela 2).

Tabela 2- Complicações da obesidade

Sistemas/ Morbidades	Complicações mais frequentes
Articulares	Maior predisposição a artroses, epifisiólise da cabeça femoral, <i>genu valgum</i> , coxa vara
Cirúrgicas	Aumento do risco cirúrgico
Crescimento	Idade óssea avançada, menarca precoce
Cardiovasculares	Hipertensão arterial hipertrofia cardíaca
Cutâneas	Micoses, dermatites, piodermites, acantose
Endócrino-metabólicas	Resistência à insulina, intolerância a glicose, dislipidemias, aumento do corticoide urinário, hiperandrogenismo, síndrome do ovário policístico
Gastrointestinais	Cálculo biliar, hérnia de hiato, abdominais, refluxo gastresofágico, esteatose hepática, esteatohepatite, hemorroidas
Neoplasias	Mais frequentes: endométrio, mama, vesícula biliar, cólon/reto, próstata, cervical uterino
Psicossociais	Discriminação social e isolamento, afastamento de atividades sociais, dificuldade de expressar seus sentimentos
Respiratórias	Síndrome de hipoventilação, apneia do sono, microatelectasias, síndrome de Pickwick, asma

Fonte: Adaptado de MELLO; LUFT; MEYER, (2004).

São notórios os resultados benéficos advindos da perda de peso nos indivíduos, levando à redução da morbidade e mortalidade. A perda de peso está associada a muitos benefícios para a saúde (Tabela 3) (JUNG, 1997; FRANCISCHI *et al.*, 2000).

Tabela 3- Benefícios clínicos da diminuição de 10 kg no peso

Mortalidade	Queda de 20—25% na mortalidade total Declínio de 30-40% nas mortes por diabetes 40-50% de diminuição nas mortes por neoplasias da Obesidade
Pressão arterial	Queda de 10 mmHg na pressão arterial Diminuição de 20 mmHg na pressão diastólica.
Angina	Redução nos sintomas de 91% Aumento de 33% na tolerância ao esforço
Lipídeos	Diminuição de 10% no colesterol total Declínio de 15% no LDL-colesterol Diminuição de 30% nos triglicérides circulantes Aumento de 8% no HDL-colesterol
Diabetes	Redução no risco de desenvolver diabetes maior do que 50% Diminuição de 30-50% na glicemia de jejum Declínio de 15% da hemoglobina glicosilada

Fonte: Modificado de JUNG, 1997.

Muitos estudos advogam que a redução de gordura corporal leva a uma grande melhora na qualidade de vida, pois possibilita redução das morbidades. Para conseguir tal redução, faz-se necessário manter o balanço energético negativo, evitando, assim, estoques de gorduras no organismo (FRANCISCHI et al.,2000).

3. METODOLOGIA

3.1. Local do estudo

Este estudo foi realizado no Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, com suporte do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, e nos Laboratórios de Histotecnologia e Microscopia do Programa de Pós-graduação em Patologia da UFPE.

3.2. Período de referência

A parte prática experimental do estudo foi realizada no período de fevereiro de 2015 a janeiro de 2016. Durante esse período, foi realizado o preparo das dietas, a indução de sobrepeso em ratos, uso das substâncias testes, processamento e análises das amostras sanguíneas e teciduais e, ainda, análises estatísticas dos dados, interpretação dos resultados e redação dos manuscritos.

3.3. Tipo de estudo:

O estudo foi realizado através do método experimental comparativo controlado.

3.4. Animais do estudo e delineamento experimental

O uso dos animais do presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA/CCB/UFPE) através do processo: 23076.053073/2014-20 (Anexo A), de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal (COBEA) e Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA).

Foram utilizadas 13 ratas da linhagem Wistar, gestantes, com peso normal, variando entre 250 a 320g, alimentadas com ração Presence® e água *ad libitum*. Ao nascimento, 57 filhotes (de 2 a 13 por ninhada) foram pesados, separados e manipulados (cria reduzida) no curso do terceiro dia de vida com vistas a obter obesidade já no período de aleitamento. Para tal, formaram-se grupos alimentados diferentemente, assim estabelecidos: Grupo Controle (GC), animais de cria habitual que foram amamentados de modo habitual (uma mãe para cada nove filhotes); e grupo de cria reduzida, com três filhotes, denominado grupo ocidentalizado (GO) que, a partir do décimo segundo dia de vida, além do aleitamento em curso, também passou a receber dieta ocidentalizada. Em uma segunda etapa do trabalho, após aleitamento,

só foram levados para seguir o estudo, trinta e dois ratos machos, o restante foi retirado, pois só serviram para compor os dois grupos de crias já referidas. A escolha por ratos do sexo masculino na composição dos grupos se deveu as variações hormonais que costumam ocorrer no sexo feminino podendo levar a alterações de comportamento e hábito alimentar nas diversas fases do seu desenvolvimento. O número da amostra trabalhada baseou-se no planejamento estatístico que foi concebido com base em estudos anteriores, números de ocorrências observadas e pelo desenho metodológico.

Após o desmame da prole, aos 21 dias de vida, foram distribuídos em gaiolas com dois animais e reorganizados em quatro grupos de oito animais cada, de acordo com a alimentação e tratamento recebidos, a saber: grupo controle, com dieta Presence® tratado com solução salina (NaCl 0,9%) (CSAL); grupo com dieta ocidentalizada tratado com solução salina (NaCl 0,9%) (OSAL); grupo com dieta ocidentalizada tratado com sibutramina (OSIB) e grupo com dieta ocidentalizada tratado com epigallocatequina-3-galato (OEGCG). A dieta ocidentalizada é um tipo de dieta hiperlipídica, com baixo teor de fibras, visando obter o sobrepeso nos animais. No presente trabalho foi tomada como base uma das dietas do departamento de Nutrição da UFPE (modificada de CAVALCANTE *et al.*, 2013) (Tabela 7) (Anexo C).

O grupo CSAL. Grupo Controle, com animais de cria habitual, foram amamentados normalmente (uma mãe para cada nove filhotes) e após o desmame alimentados com ração Presence® e água *ad libitum*. Após quatro meses de desmame, receberam adição de 2ml de solução salina por gavagem, uma vez ao dia, pela manhã, durante oito dias consecutivos.

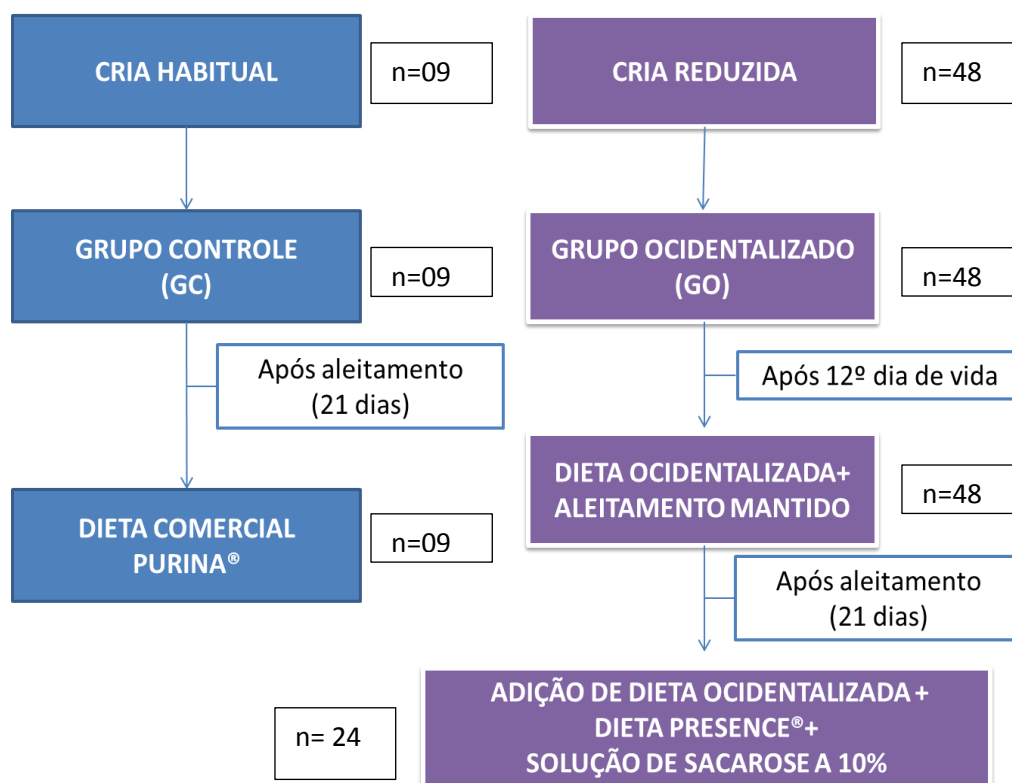
Grupo OSAL: animais provenientes de cria reduzida (uma mãe para três filhotes), que, além da amamentação em curso, receberam dieta ocidentalizada a partir do 12º dia de aleitamento. Logo após o desmame (aos 21 dias), foram alimentados durante quatro dias da semana com dieta ocidentalizada, três dias da semana com ração Presence® e uso de sacarose a 10% na água de beber *ad libitum*, durante as cinco primeiras semanas após o desmame. Após quatro meses de desmame, receberam adição de 2ml de solução salina por gavagem, uma vez ao dia, pela manhã, durante oito dias consecutivos.

Grupo OSIB: animais provenientes de cria reduzida (uma mãe para três filhotes) que além da amamentação em curso, receberam dieta ocidentalizada a partir do 12º dia de aleitamento. Logo após o desmame (aos 21 dias) foram alimentados por quatro dias da semana com dieta ocidentalizada, três dias da semana com ração Presence® e uso de sacarose a 10% na água de beber *ad libitum* durante as cinco primeiras semanas após o desmame. Após quatro meses de desmame receberam 2 ml de solução de sibutramina 7,5 mg/Kg, por gavagem, uma vez ao dia, pela manhã, durante oito dias consecutivos.

Grupo OEGCG: animais provenientes de cria reduzida (1umamãe para três filhotes) que, além da amamentação em curso, receberam dieta ocidentalizada a partir do 12º dia de aleitamento. Logo após o desmame (aos 21 dias), foram alimentados por quatro dias da semana com dieta ocidentalizada, três dias da semana com ração Presence® e uso de sacarose a10% na água de beber *ad libitum*, durante as cinco primeiras semanas após o desmame. Após quatro meses do desmame, receberam adição de 2 ml de solução de epigallocatequina-3-galato na dose de 50mg/Kg/dia, por gavagem, uma vez ao dia, pela manhã, durante oito dias consecutivos (Figura 3).

Durante todo o estudo os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno com tampa de aço. A temperatura ambiente foi mantida em 22°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) e ciclo claro/escuro invertido de 12 horas (claro: das 20h00 às 08h00). O trabalho com ciclo invertido tem como objetivo causar menos interferência no descanso dos animais (que ocorre no período claro do ciclo), haja vista a grande demanda de estudos no biotério. A umidade relativa do ar e fotoperíodos e seguiram as recomendações do COBEA/CONCEA.

Figura 3- Distribuição dos tipos de dieta por grupo de ratos. Padrão de dieta visando obesidade em curto período de tempo.



Fonte: Dados da pesquisa.

Todos os grupos receberam, durante todo o tempo, água *ad libitum* e suas dietas sem restrições. Findados os quatro meses (pós-desmame) e após o quadro de obesidade estabelecida, foi iniciado o uso das drogas (Tabela 4) (Figura 4). Ambas as drogas foram diluídas em água potável, ministradas uma vez ao dia por gavagem, para assegurar que a quantidade calculada tenha sido de fato administrada, durante oito dias consecutivos. Quando da ocorrência de regurgitações de doses, as mesmas foram repetidas pela metade. Os grupos CSAL e OSAL receberam solução fisiológica a 0,9%, também por gavagem e com o mesmo procedimento de repetição de metade da quantidade ministrada quando necessário.

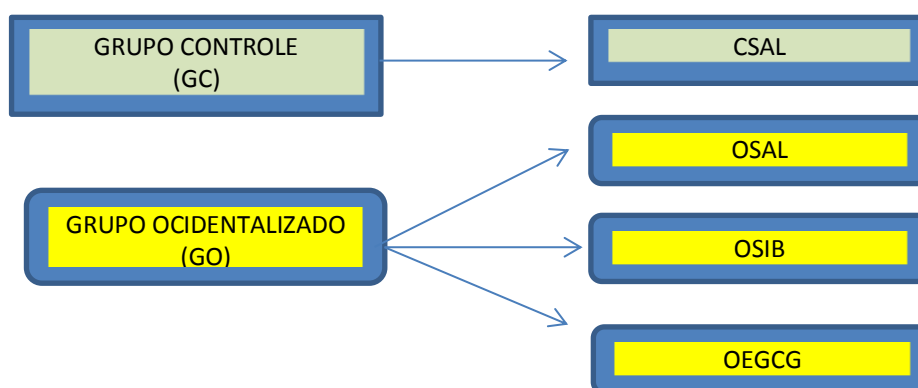
Tabela 4- Grupos experimentais de dietas e tratamentos após período de desmame.

GRUPOS EXPERIMENTAIS n=32	DIETA PRESENCE® (após 21º dia)	DIETA PRESENCE® associada à DIETA OCIDENTALIZADA e água com sacarose TRATAMENTO no 4º mês (oito dias)	
Controle salina(CSAL) **n=08	X (7 dias)	--	--
Ocidentalizada salina (OSAL) **n=06	X (3 dias)	X (4 dias)	--
Ocidentalizada sibutramina (OSIB) **n=06	X (3 dias)	X (4 dias)	Sibutramina 7,5mg/kg
Ocidentalizada EGCG (EGCG) **n=06	X (3 dias)	X (4 dias)	EGCG 50mg/kg

(*) EGCG: Epigallocatequina-3-galato
 (**) O número de animais do estudo variou um pouco devido à perda por intercorrências naturais.

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 4- Distribuição dos grupos após o desmame: CSAL: controle salina; OSAL: Ocidentalizado salina; OSIB: ocidentalizado sibutramina e OEGCG: ocidentalizado EGCG.



Fonte: Dados da pesquisa.

Ao final do estudo e visando à eutanásia, os ratos foram anestesiados com Ketamina intramuscular em membro inferior (45mg/kg), associada com relaxante muscular Xilazina (7mg/kg). Após constatação de arreflexia profunda, os animais foram submetidos à

laparotomia mediana para retirada de órgãos. Suas mortes foram a efeito após exsanguinação e pneumotórax após abertura do tórax.

Dois ratos foram retirados precocemente do estudo por apresentarem quadro de infecção respiratória e cutânea, no curso do segundo e quarto meses de vida, respectivamente. As causas das mortes foram diagnosticadas clinicamente por veterinário do biotério.

3.5. Dietas

A dieta Presence®, dieta comercial da empresa Purina®, foi usada nos animais com cria habitual (com nove filhotes) e também nos grupos obeso três dias por semana. Possui em média 23g% de proteína, 49g% de carboidrato e 4,0g% de lipídios, com fornecimento calórico de 4,07kcal/g (Tabela 5) (Anexo B).

A dieta ocidentalizada foi usada nos grupos de cria reduzida após o 12º dia de aleitamento e, posteriormente, nos grupos de obesidade. A dieta hiperlipídica ocidentalizada utiliza ingredientes purificados/semipurificados industrializados (laboratório Rhoster Indústria e Comércio) e alimentos naturais. Foi preparada no Departamento de Nutrição da UFPE, produzida para as fases de crescimento e manutenção do rato com uso conforme a idade do animal e foram feitas em duas versões de sabores, com variações de seus componentes palatáveis para cada uma delas, mas com preservação dos teores nutricionais.

O alimento foi oferecido permutando as duas variedades de sabores semanalmente e usando sempre a dieta de Purina® por três dias, entre elas, objetivando manter a avidez pelo alimento, com fins de preservar seu consumo estimulado. Escolhemos o modelo de “dieta ocidentalizada” com o intuito de construir um modelo de obesidade que seja comparável ao da sociedade atual e, adicionamos a ingesta de sacarose a 10% numa fase precoce da vida dos ratos, para complementar o hábito ocidentalizado tão visto em crianças e adolescentes, com o frequente uso de refrigerantes.

As versões da dieta ocidentalizada, crescimento e manutenção foram baseadas em Cavalcante *et al*, 2013. Na fase de crescimento, esta teve seus valores de proteínas em torno de 20g%, 17g% lipídios e 40g% de carboidratos; a dieta de manutenção situou-se em torno de 15% de proteínas, 17% de lipídios e 50% de carboidratos fornecimento médio de 4,0Kcal/g (Tabela 6) (Anexo C).

Tabela 5- Dieta para roedores – Presence®.

Componentes	Presence® (g%)
Proteína	23
Carboidrato	49
Lipídeos	4,0
Calorias (Kcal/g)	4,07

Fonte: Laboratório - Dieta Presence®- Nutrição para animais de laboratório (ANEXO B).

Tabela 6- Dieta hiperlipídica – Composição e contribuição calórica dos macronutrientes da dieta ocidentalizada.

Componentes	Crescimento (g%) % - Kcal/g	Manutenção (g%) - % Kcal/g
Proteína	20,0 - 19%	15,0 - 15%
Carboidratos	40,0 - 44%	50,0 - 50%
Lipídios	17,0 - 37%	17,0 - 35%
Calorias (Kcal/g)	4,0	4,0

Fonte: Dieta hiperlipídica: CAVALCANTE *et al.*, (2013) (ANEXO C).

3.6. Tratamentos

Epigallocatequina-3-galato (EGCG), a catequina mais ativa da *Camellia sinensis*, separada por método de Cromatografia de Alta Eficiência (HPLC), pó branco liofilizado, com grau de pureza superior a 98%, do laboratório chinês Aktin Chemicals (Anexo D). A substância foi administrada na dose de 50mg/kg/dia, 24 em 24 horas, por gavagem, por oito dias seguidos (8 doses/rato). O manuseio da EGCG foi realizado tentando preservar seus componentes bioativos antioxidantes, reduzindo ao máximo a exposição à luz e oxigênio com os cuidados de deixá-lo em recipiente de vidro escuro e bem fechado. A substância foi diluída em água potável, na quantidade de até 2 ml por rato. O preparo foi feito no dia anterior ao uso e mantida refrigerada até o momento da utilização. A dose escolhida foi respaldada na literatura, que, no geral, utiliza a via intraperitoneal para a substância pura. Castro *et al.*, (2013), utilizaram duas doses mais elevadas de EGCG (150 e 200 mg/Kg), intraperitoneal em ratos ratos isogênicos Lewis.

A droga usada para comparação com a EGCG foi o Cloridrato de Sibutramina Monoidratado, do Laboratório Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A., usada na dose de 7,5mg/kg/dose, 24 em 24 horas, administrados por gavagem, por oito dias consecutivos (CHOO, 2003).

3.7. Medidas murinométricas

Dentre as medidas murinométricas, foram avaliados: peso, comprimento nasoanal, medida da circunferência abdominal, circunferência torácica e IMC.

3.7.1. Pesagem dos animais

A mensuração do peso foi realizada nas crias, após o terceiro dia de vida, com intervalos de três em três dias até o desmame, e, a partir daí, semanalmente. Após o quarto mês de vida pós-desmame, quando do início das gavagens, os ratos tiveram seus pesos aferidos diariamente (por oito dias) até o sacrifício. Utilizada balança digital da marca *Kmach*, com capacidade máxima 700g e mínima 1g, para aferição dos pesos dos ratos.

3.7.2. Comprimento nasoanal, perímetros abdominal e torácico.

Essas medidas foram feitas antes e depois do uso das drogas, ou seja, primeira ao final do quinto mês de vida (quarto do desmame) e segunda feita com animais anestesiados para eutanásia. Foi utilizado papel milimetrado para registro do comprimento nasoanal e fita métrica antropométrica (inextensível) para medidas perimétricas.

3.7.3. Índice de massa corporal (IMC)

Índice de adiposidade muito usado em ratos e que guarda relação positiva com o índice de Lee (NERY *et al*, 2011). Determinado através da relação entre peso corporal (g) e o quadrado do comprimento nasoanal (cm) (NOVELLI *et al.*, 2007). Calculado ao final do estudo.

3.8. Consumo alimentar

A mensuração do consumo alimentar foi iniciada logo após o desmame e levada a efeito até o final do estudo. As medidas dos alimentos foram realizadas diariamente e medidas de líquidos, três vezes na semana. Avaliados: Consumo de dieta Presence®, dieta ocidentalizada, água potável e água com sacarose a 10%. Seus cálculos foram obtidos através da subtração das cotas de água e dieta oferecidas anteriormente.

3.9. Dosagens bioquímicas

Foram realizados exames bioquímicos após a eutanásia, com dosagem no soro de: Glicemia, ureia, TGO, TGP, creatinina, triglicerídeos, fosfatase alcalina, ácido úrico, colesterol total, colesterol HDL, LDL e VLDL (Anexo F). Esses exames foram realizados no laboratório Central do Hospital das Clínicas, através do aparelho *AU680 Chemistry Analyzer*, analisador de dosagens bioquímicas que utiliza sistema analítico químico totalmente automatizado (Anexo G). As amostras de sangue foram suficientes para todos os exames preconizados.

3.10. Estudo morfológico

Ao final do tratamento e após 12 horas de jejum, os animais foram nestesiados com Ketamina intramuscular em pata traseira (45mg/kg), associada com Xilazina (7mg/kg). Determinada arreflexia profunda, e após a tomada de medidas murinométricas, os ratos foram levados para laparotomia. Os animais tiveram morte precipitada por exsanguinação e pneumotórax após abertura do tórax. Após laparotomia mediana foram retirados fígado, rins, coração, baço, estômago, gordura gonadal e retroperitoneal. Os espécimes foram lavados com soro fisiológico a 0,9% e secos rapidamente em papel filtro para, em seguida serem pesados em balança eletrônica digital, marca Marte (modelo ASF11), com capacidade entre 0,002 e 500g.

Os espécimes foram examinados macroscopicamente e separados: coração, rins e fígado para o exame histológico. Os órgãos foram fixados em formol a 10% tamponado e mantidos durante 24 horas à temperatura ambiente. A seguir, foram desidratados em concentrações crescentes de etanol, diafanizados em xilol e processados convencionalmente para estudo em microscopia de luz, sendo incluídos em parafina. Os cortes foram obtidos na espessura de aproximadamente 4 μ m, corados pela hematoxilina-eosina e tricrômico de Gomori, montados em Entellan, observados e fotografados em Microscópio Olympus BX-50.

3.11. Método de Análise Estatística

Os dados foram registrados em planilhas do Excel para análise dos dados paramétricos: média e desvio padrão. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Kolmogorov Smirnov. Com a finalidade de verificar diferenças nos valores médios e entre os grupos, foi utilizado o teste estatístico, segundo efeito dos fatores testados, *one way* ou *Two-Way* e medidas repetitivas (ANOVA RM), complementado pelo teste de comparação múltipla

de Bonferroni. Teste t de student pareado foi utilizado para verificar diferença entre os grupos quando cada grupo era controle de si mesmo. Para processamento de dados, foi utilizado o programa estatístico Graphpad Prism 6.0 (GraphPad Software inc., La Jolla, CA, USA). Todos os resultados foram considerados significantes com $p < 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Artigo original a ser enviado.

**REVISTA: ARQUIVOS BRASILEIROS DE ENDOCRINOLOGIA E
METABOLOGIA**

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE SIBUTRAMINA E
EPIGALOCATEQUINA-3-GALATO EM RATOS COM OBESIDADE
INDUZIDA POR DIETA.**

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE SIBUTRAMINA E EPIGALOCATEQUINA-3-GALATO EM RATOS COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA

A obesidade vem assumindo crescente interesse na comunidade científica pela sua alta prevalência e doenças graves envolvidas nesse processo. **Objetivo:** O estudo visa avaliar o real poder de emagrecimento da Epigallocatequina-3-galato (EGCG), catequina mais importante da *Camellia sinensis* (chá verde), em ratos Wistar obesos, comparando-a com a sibutramina, assim como verificar possíveis efeitos tóxicos advindo de seu uso. **Métodos:** Estudo experimental, comparativo, envolvendo 32 ratos Wistar, procedentes de cria habitual e manipulada, fornecidos pelo biotério de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, alimentados com dieta Presence® e ocidentalizada, compondo quatro grupos, a saber: Grupo CSAL grupo controle, proveniente de cria habitual, que fizeram uso da dieta Presence® e tratados com NaCl 0,9%; Grupo OSAL, obeso, cria reduzida, alimentado com dieta ocidentalizada e tratado com NaCl 0,9%; OSIB, obeso, cria reduzida, com dieta ocidentalizada e tratado com sibutramina 7,5 mg/Kg, e OEGCG, obeso, cria reduzida, alimentado com dieta ocidentalizada e tratado com EGCG 50mg/Kg/dia. **Resultados:** Estudo comparativo mostrou que ratos obesos tratados por oito dias com EGCG apresentaram redução significativa de consumo alimentar e peso corporal. Avaliações bioquímica e histológica realizadas não mostraram toxicidade para os animais, e ainda foi visto que o grupo que fez uso da EGCG não apresentou esteatose hepática nem infiltrado linfocitário, diferentemente dos demais grupos obesos. **Conclusão:** O grupo de animais que fez uso da EGCG apresentou redução importante no consumo alimentar e peso e esses foram equiparados à sibutramina. Apresentaram, também, regressão ou proteção de esteatose hepática e esteato hepatite. Não foi observada toxicidade com a substância. Concluímos que a EGCG poderia ser considerada para tratamento de obesidade em humanos, devendo ser realizados, portanto, mais estudos em humanos, inclusive com doses variadas.

Palavras-chave: Chá verde. *Camellia sinensis*. Catequinas. Dieta hiperlipídica. Sobrepeso.

1. INTRODUÇÃO

A obesidade já se constitui uma pandemia, sendo decorrente do desequilíbrio entre a quantidade de energia ingerida e a energia dissipada. O excedente positivo da balança levaria à estocagem de gordura sob a forma de tecido adiposo. Sendo uma doença multifatorial, tem nos estímulos nutricionais, metabólicos, neural, comportamental, genéticos ou a associação desses a base para geração de hipertrofia e hiperplasia das células gordurosas (1).

Há mais de duas décadas, os Estados Unidos vêm aumentando sua população de indivíduos obesos ou com sobrepeso, chegando atualmente a acometer 2/3 dos americanos. A obesidade infantil também vem em franco crescimento (2). No Brasil, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE) publicou, em 2010, os resultados da pesquisa do Orçamento Familiar (FOP), entre os anos de 2008 a 2009, revelando o grande excesso de peso na população, com aumento de sobrepeso, passando de 18,5% para 50,1%, e obesidade, de 28,7% para 48% (3).

Existem vários tratamentos para a obesidade. Entretanto, por ter um comportamento crônico e redicivante, com vários fatores associados a sua gênese, seu controle permanente se torna muito frágil (4). Atualmente, há poucos medicamentos para controle da obesidade, tendo em vista que as substâncias derivadas das anfetaminas (Fenproporex, afepramona e Mazindol) tiveram sua comercialização suspensas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), devido a preocupantes efeitos colaterais relacionados principalmente ao coração e ao pulmão. A Sibutramina também sofreu restrições em seu uso (5). Um tratamento muito procurado pelos obesos, em condições extremas de peso, é a cirurgia bariátrica, que, segundo a Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica (SBCBM), vem se consolidando a cada ano com um número cada vez maior de adeptos, sendo o Brasil o segundo país que mais realiza esse tipo de cirurgia (6).

Potenciais agentes terapêuticos, especialmente os com baixa toxicidade, poderiam apresentar importante impacto no tratamento e prevenção da obesidade (2). Neste contexto, vale salientar a existência da *Camellia sinensis*, planta originária do Sul da Ásia e muito cultivada por países como China e Japão, cujas folhas jovens, sem processo de fermentação, dão origem ao chá verde como é conhecido comercialmente (7).

O chá verde, por sua grande quantidade de polifenóis, principalmente as catequinas, em especial a EGCG, possui potente ação antioxidante, sendo a principal responsável pelas ações benéficas do chá, com possíveis efeitos de emagrecimento (8). Estudos utilizando ratos, com suplementação de catequinas, mostram redução de peso, de colesterol e de níveis

glicêmicos (9). Alguns estudos também mostram que as catequinas podem atuar inibindo a ação da enzima catecol-o-metiltransferase (COMT), levando a ação prolongada da noradrenalina nas junções sinápticas e aumentando, assim, a termogênese (10).

A sibutramina, substância que foi comparada com a EGCG no presente trabalho, atua farmacologicamente inibindo a recaptação de serotonina, noradrenalina e, em menor grau, a dopamina, sem, com isso, levar a um aumento compensatório desses neurotransmissores, entre outros mecanismos (11).

Diante do exposto, numa tentativa de encontrar uma substância ou alimento que venha a controlar o curso dessa devastadora doença, o presente trabalho pretende avaliar a ação antiobesidade da *Camellia sinensis* a partir de sua principal catequina, a EGCG, em ratos obesos, avaliando, também, seus efeitos tóxicos bioquímica e histologicamente. Apesar de vários trabalhos demonstrarem a importante ação da EGCG na perda de peso, até o presente momento, possivelmente, não há estudos comparativos da EGCG com outra droga antiobesidade.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Animais e condições experimentais

O uso dos animais do presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal (COBEA) e Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA). Processo número: 23076.053073/2014-20.

Os ratos foram provenientes da colônia de criação do biotério de nutrição da UFPE. Utilizadas 13 ratas da linhagem Wistar, gestante, alimentadas com ração Presence® e água *ad libitum*. Ao nascimento, 57 filhotes (de 2 a 13 por ninhada) foram manipulados (cria reduzida) no curso do terceiro dia de vida com vistas a obter obesidade já no período de aleitamento. Foram formados grupos alimentados de formas diferentes, assim estabelecidos: Grupo Controle (GC), animais de cria habitual I (uma mãe para cada nove filhotes) e grupo de cria reduzida, com três filhotes, denominado grupo ocidentalizado (GO), que, a partir do décimo segundo dia de vida, além do aleitamento em curso, também passou a receber dieta ocidentalizada. Após o desmame da prole (21 dias), os ratos machos foram assim distribuídos:

Grupo Controle (CSAL), grupo não obeso, com animais de cria habitual, amamentados normalmente (1 mãe para cada 9 filhotes) e após o desmame alimentados com

ração Presence® e água *ad libitum*. Após quatro meses de desmame, recebeu, por gavagem, solução de salina.

Grupo Ocidentalizado, grupo obeso, com animais provenientes de cria reduzida (1mãe para 3 filhotes), que, além da amamentação em curso, receberam dieta ocidentalizada a partir do 12º dia de aleitamento. Logo após o desmame (21 dias), foram alimentados durante quatro dias da semana com dieta ocidentalizada, três dias da semana com ração Presence® e uso de solução de sacarose a 10%, sendo esta última durante cinco semanas após o desmame. Após quatro meses de desmame, já estabelecido o quadro de obesidade, os ratos receberam adição de tratamento por gavagem: solução salina por gavagem (OSAL), solução de sibutramina 7,5 mg/Kg (OSIB) e solução de epigallocatequina-3-galato na dose de 50mg/Kg/dia (OEGCG).

Durante todo o estudo os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno com tampa de aço. A temperatura ambiente foi mantida em 22°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) e ciclo claro/escuro invertido de 12 horas (claro: das 20h00 às 08h00). Todos os grupos receberam água *ad libitum* e suas dietas sem restrições. Findados os quatro meses (pós-desmame) e após o quadro de obesidade, foi iniciado o uso das drogas.

2.2. Dietas utilizadas

A dieta Presence®, dieta comercial da empresa purina®, foi usada nos animais com cria habitual (com nove filhotes) e também nos grupos obesos três dias por semana. Possui em média 23g% de proteína, 49g% de carboidrato e 4,0g% de lipídios, com fornecimento calórico de 4,07kcal/g.

A dieta ocidentalizada foi usada nos grupos de cria reduzida após o 12º dia de aleitamento e, posteriormente, nos grupos de obesidade. A dieta hiperlipídica ocidentalizada utiliza ingredientes purificados/semipurificados industrializados (laboratório Rhoster Indústria e Comércio) e alimentos naturais. Foi preparada no Departamento de Nutrição da UFPE, produzida para as fases de crescimento e manutenção do rato (Tabela 6). O alimento foi oferecido permutando as duas variedades de sabores semanalmente e usando sempre a dieta de purina por três dias, com fins de preservar seu consumo estimulado. Houve também uso de solução de sacarose 10%, nos primeiros cinco meses pós-desmame, para mimetizar o uso de refrigerantes em idade juvenil, tão comum no hábito ocidentalizado.

2.3. Tratamentos utilizados

Epigallocatequina-3-galato (EGCG), a catequina mais ativa da *Camellia sinensis*, separada por método de Cromatografia de Alta Eficiência (HPLC), pó branco liofilizado, com grau de pureza superior a 98%, do laboratório chinês Aktin Chemicals. A substância foi administrada no grupo OEGCG, na dose de 50mg/kg/dia, 24 em 24 horas, por gavagem, por oito dias seguidos (8 doses/rato), na quantidade de até 2 ml por rato. A dose escolhida foi respaldada na literatura, que, no geral, utiliza a via intraperitoneal para a substância pura (12). A droga usada para comparação com a EGCG foi o Cloridrato de Sibutramina Monoidratado, do Laboratório Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A. Usada pelo grupo OSIB, na dose de 7,5mg/kg/dose, 24 em 24 horas, administrados por gavagem, por oito dias consecutivos. Os grupos CSAL e OSAL fizeram uso de 2 ml soro fisiológico a 0,9%, também por gavagem.

2.4. Parâmetros avaliados

Peso dos animais- A mensuração do peso corporal foi realizada nas crias, após o terceiro dia de vida, com intervalos de três em três dias até o desmame, e, a partir daí, semanalmente. Após o quarto mês de vida pós-desmame, quando do início das gavagens, os ratos tiveram seus pesos aferidos diariamente (por oito dias) até o sacrifício. Utilizada balança digital da marca *Kmach®*, com capacidade máxima 700g e mínima 1g, para aferição dos pesos dos ratos.

Comprimento nasoanal, perímetros abdominal e torácico e IMC- Essas medidas foram feitas antes e depois do uso das drogas, ou seja, primeira ao final do quinto mês de vida (quarto do desmame) e segunda feita com animais anestesiados para eutanásia. O IMC também é muito usado em ratos por guardar relação positiva com o índice de Lee (13; 14).

Consumo alimentar- A mensuração do consumo alimentar foi iniciada logo após o desmame e levada a efeito até o final do estudo. As medidas dos alimentos foram realizadas diariamente e medidas de líquidos, três vezes na semana. Avaliados: Consumo de dieta Presence®, dieta ocidentalizada, água potável e água com sacarose a 10%. Seus cálculos foram obtidos através da subtração das cotas de água e dieta oferecidas anteriormente.

Dosagens bioquímicas- Foram realizados exames bioquímicos após a eutanásia, com dosagem no soro de: Glicemia, ureia, TGO, TGP, creatinina, triglicerídeos, fosfatase alcalina, ácido úrico, colesterol total, colesterol HDL, LDL e VLDL. Esses exames foram realizados no

laboratório Central do Hospital das Clínicas- UFPE, através do aparelho *AU680 Chemistry Analyzer*, analisador de dosagens bioquímicas que utiliza sistema analítico químico totalmente automatizado.

Estudo morfológico- Ao final do tratamento e após 12 horas de jejum, os animais foram anestesiados com Ketamina intramuscular em membro posterior (45mg/kg), associada com Xilazina (7mg/kg). Foram levados para laparotomia mediana onde foram retirados fígado, rins, coração, baço, estômago, gordura gonadal e retroperitoneal. As vísceras foram pesadas em balança eletrônica digital, marca Marte (modelo ASF11), com capacidade entre 0,002 e 500g. Os espécimes foram examinados macroscopicamente e separados: coração, rins e fígado para o exame histológico. Após procedimentos convencionais de fixação, desidratação e diafanização, os tecidos foram processados convencionalmente para estudo em microscopia de luz. Os cortes foram obtidos na espessura de aproximadamente 4 μ m, corados pela hematoxilina-eosina e tricrômico de Gomori, montados em Entellan e fotografados em Microscópio Olympus BX-50.

Análise Estatística

Os dados foram registrados em planilhas do Excel para análise dos dados paramétricos: média e desvio padrão. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Kolmogorov Smirnov. Com a finalidade de verificar diferenças nos valores médios e entre os grupos, foi utilizado o teste estatístico, segundo efeito dos fatores testados, *One way* ou *Two-Way* e medidas repetitivas (ANOVA RM), complementado pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni. O teste t de student pareado foi realizado para verificar diferenças quando cada grupo era controle de si próprio. Utilizado o programa estatístico Graphpad Prism 6.0 (GraphPad Software inc., La Jolla, CA, USA). Todos os resultados foram considerados significantes com $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Estudos murinométricos e exames laboratoriais

A observação ponderal dos animais, participantes das ninhadas durante aleitamento, mostrou que, a partir do 15^a dia de vida, o grupo da ninhada reduzida mostrou maior peso corporal e que fora mantido até o fim do aleitamento (Figura 5). Entretanto, o acompanhamento do peso posteriormente mostrou que, ao longo do primeiro mês de vida, essa diferença foi reduzida até ficar bem próxima ao grupo controle (Figura 5 e 6).

Após o desmame, o peso dos ratos foi acompanhado semanalmente até a 18ª semana, sendo observada diferença de peso significativa após a 11ª semana entre os grupos CSAL e os grupos de dieta ocidentalizada (OSAL, OSIB e OEGCG), constituindo, assim, o modelo de obesidade ($p < 0,05$) (Figura 6).

A análise do peso dos animais durante o tratamento de oito dias com sibutramina e EGCG mostrou que a partir do 5º dia de tratamento ocorreu significativa redução de peso entre os grupos obesos tratados (OSIB e OEGCG) em relação ao controle obeso (OSAL), levando-os à aproximação com o grupo controle não obeso (CSAL). Não se observou diferença entre os dois grupos obesos tratados (OSIB e OEGCG). Cálculos de diferenças de pesos, nos quatro grupos, antes e depois das gavagens mostram diferenças percentuais significantes de redução de peso entre os grupos obesos tratados e os que fizeram uso de salina (Figura 7) (Tabela 7).

Observou-se que os perímetros torácicos medidos antes do uso das drogas não apresentaram diferenças significantes entre os grupos com dieta ocidentalizada e dieta Presence® (Figura 8 A). Depois do tratamento, foi observado que o grupo OEGCG apresentou a medida significativamente menor que OSAL e OSIB (Figura 8 B).

Avaliações dos perímetros abdominais mostraram que, antes do tratamento, todos os grupos de obesidade (OSAL, OSIB e OEGCG) mostraram perímetros abdominais significativamente maiores que os do controle não obeso (CSAL) (Figura 9 A) e que, depois de tratados, esse mesmo grupo apresentou medidas menores que o grupo controle obeso (OSAL). Ou seja, os grupos tratados (OSIB e OEGCG) reduziram a medida, equiparando-se ao controle não obeso (CSAL) (Figura 9 B).

As medidas de IMC antes e depois das drogas mostraram que, antes do tratamento, os grupos obesos OSAL, OSIB e OEGCG tinham IMC maior que o grupo controle CSAL (Figura 10 A), e, depois do tratamento, os grupos OSIB e OEGCG, apresentaram IMC significativamente menor que o controle obeso OSAL (Figura 10 B).

O consumo de dieta mostrou-se muito irregular durante todo o período pós-desmame, em alguns momentos predominando um grupo sobre o outro, mas observa-se nitidamente que o grupo CSAL ingeriu maior quantidade de alimentos que os demais (Figura 11A). Durante o período de tratamento, ocorreu queda acentuada no consumo dos animais que fizeram uso de sibutramina e EGCG em relação aos controles salina (CSAL) e os obesos sem drogas (OSAL). A queda no consumo foi vista logo nos primeiros dias e mantida até o oitavo dia, quando foi interrompido o estudo (Figura 11 B e 12). Cálculos de variação do consumo

semanal antes e depois do uso das drogas mostram diferenças percentuais significativas (tabela 2) entre os grupos OSIB e OEGCG, com consumo reduzido.

Exames laboratoriais e peso das vísceras dos animais foram expressos em tabelas (tabelas 3 e 4). Observa-se que não houve alterações nem na função hepática nem renal em nenhum grupo do estudo e que houve diferença positiva nas dosagens de triglicerídeos e colesterol VLDL no grupo OEGCG. Em relação ao peso das vísceras, somente ocorreu alteração significativa em relação à gordura gonadal, que se mostrou mais pesada no grupo EGCG.

3.2. Estudo histológico dos espécimes após tratamento com sibutramina e EGCG

O estudo histológico não mostrou diferenças estruturais entre os cortes de coração e rins em todos os grupos analisados.

Entretanto, nos animais do grupo CSAL, o fígado, apesar de mostrar estrutura hepática bem conservada, revelou leve grau de esteatose (Figura 13). Nos animais dos grupos OSIB e OSAL observou-se maior grau de esteatose que o grupo CSAL e presença de infiltrado inflamatório entre os cordões hepáticos e nos espaços portais (Figura 14 e 15). Já no grupo OEGCG a esteatose mostrou-se pouco evidente, em pequena quantidade, e houve ausência de infiltrado inflamatório (Figura 16).

As observações dos espécimes corados com o tricrômico de Gomori não revelou alteração na organização do tecido estromal, com distribuição homogênea na vascularização e na matriz colágena interlobular.

4. DISCUSSÃO

Em animais de experimentação, diferentemente da população humana, a gênese da obesidade está enormemente envolvida com uma variedade de mutações genéticas, determinando a predominância dessas sobre os fatores ambientais (15; 16) e dificultando a obtenção da obesidade em laboratório. O modelo usado de cria reduzida baseia-se no princípio de que o excesso de oferta alimentar numa fase precoce da vida poderia alterar o padrão de consumo habitual e gerar hiperfagia. A cria reduzida devido à hiperalimentação também geraria um hiperinsulinismo perinatal. A insulina pode induzir alterações funcionais em núcleos hipotalâmicos de forma permanente, levando a alterações no padrão de resposta em nível de receptores de insulina, que podem culminar no aparecimento de obesidade futura (17). No modelo animal, por imaturidade dos centros hipotalâmicos, a ingesta alimentar passa

a ser regida pela capacitância do tubo digestivo (13) (18), gerando um maior consumo calórico. Entretanto, não se sabe ao certo se o excesso de peso advindo da cria reduzida poderia ser levado para a idade adulta (13).

Em nosso estudo, observamos o aumento significativo de peso a partir do 15º dia de vida (Figura 1). Houve aumento importante de peso da cria reduzida, que se fez progressivamente até o final da lactação, concordando com muitos trabalhos com cria reduzida (19). Entretanto, esse ganho passa a não mais ocorrer após desmame das crias (gráfico 2). Xiao *et al.* (20), estudando efeitos da superalimentação no tecido adiposo no período perinatal de cria normal e manipulada submetida a ambiente frio, encontraram termogênese menor em gordura marrom dos ratos superalimentados e aventaram a possibilidade desse padrão de resposta à termogênese de menor eficiência aumentar a suscetibilidade de ocorrência de obesidade na idade adulta. Trabalho de Nery *et al.* (13), com cria de ratos reduzida levado a efeito (crias controle de dez e crias reduzidas com quatro filhotes) não encontrou persistência da obesidade. Esse processo de não manutenção de ganho peso diferenciado após o desmame pode se dar pela redução na taxa específica de ganho de peso ou redução na velocidade de ganho de peso com o avançar da idade (13). Outros fatores podem estar relacionados, como a retirada do alimento em abundância e idealmente balanceado, como é o leite materno; adaptação a novos alimentos ou já pela ocorrência de maturidade do sistema hipotalâmico; consequente saciedade fisiológica que passa a ocorrer com o animal adulto. Mais estudos nessa área seriam de importância para dirimir essas dúvidas e possíveis mecanismos que podem estar envolvidos.

O acompanhamento das medidas murinométricas demonstrou que, após o desmame, ocorreu ganho de peso nos ratos com as duas dietas. No grupo de dieta ocidentalizada (OSAL, OSIB e OEGCG), observamos que o ganho de peso em relação ao controle (CSAL) foi significativamente maior a partir da 11ª semana, constituindo, assim, o modelo de obesidade desejado (Figura 6). Em grande parte dos trabalhos, a dieta ocidentalizada, por seu alto teor de gordura com balanceamento de proteínas (21); (Tabela 6), tem proporcionado ganhos de peso diferenciados; porém, a heterogeneidade genética existente, levando a importantes alterações de peso nos grupos, tem levado a dificuldades nos trabalhos com esses animais, bem como as análises estatísticas. No nosso trabalho, alguns ratos apresentaram diferenças de peso importantes e foram retirados da pesquisa (corte de dois ratos com pesos extremos), para possibilitar cálculos de normalidade estatística. Deixar valores inconsistentes ocasiona prejuízo na interpretação dos resultados. Em estatística, é usada a prática de cortes valores extremos, também chamados, valores aberrantes (*outliers*), podendo ser utilizado, para tal, o

cálculo do valor padronizado, pois possibilita enquadrar os dados em até 99,7% de probabilidade de estarem no máximo até três desvios padrão da média, aproximando a curva de valores para forma de sino e reduzindo, assim, as dispersões das amostras (22).

Após o uso das drogas sibutramina e EGCG por um período de oito dias, observamos que houve diminuição importante de peso, igualmente significativa no grupo das drogas (OSIB e OEGC) em relação ao grupo controle obeso (OSAL) (Figura 7). Cálculos de variação percentual de peso depois do uso das drogas mostraram que as reduções de peso no grupo OSIB e OEGCG foram da ordem de 12% e 16%, respectivamente (Tabela 7). Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos das drogas. Estudo de Kao *et al* (23) mostrou resultados semelhantes com o uso de EGCG em ratos da raça *Sprague Dawley*, magros, com e sem obesidade, que usaram EGCG na dose de 15mg de 2 a 7 dias por via intraperitoneal. Foi observada extrema perda de peso, com valores próximos a 50% do peso inicial, e queda no consumo alimentar, que se aproximou de 60%, com aumento de consumo alimentar e ganho de peso após suspensão da droga. Contrário aos nossos achados, Choo (24) defende que a perda de peso nos animais tratados com EGCG decorre de outros mecanismos metabólicos, não sendo a redução de a ingesta alimentar algo preponderante. Há de se levar em conta que o nosso estudo limitou-se a verificar perda de peso apenas por observação de quantitativo de ingesta alimentar. Não foram estudados outros possíveis mecanismos envolvidos no emagrecimento animal.

Na nossa pesquisa, em relação à redução ponderal, podem estar envolvidos mecanismos controle central alimentar (apesar de não ter sido alvo da pesquisa), tendo em vista que foi notável a grande redução percentual do consumo de dieta com uso da EGCG, chegando a 68% (Tabela 8) e deixando para trás a possibilidade de um maior envolvimento em mecanismos bloqueio de enzimas digestivas que pudessem levar a não absorção do alimento ou a um aumento da termogênese no tecido adiposo, entre outros.

Observamos também que o estresse decorrente das gavagens realizadas com soro fisiológico nos grupos de controles (CSAL e OSAL) não contribuiu com as alterações nem de peso (tabela 1) nem de consumo (Tabela 8), não interferindo, assim, com os resultados do experimento.

A sibutramina, droga já bem consolidada no tratamento da obesidade e com indicação bem definida, foi utilizada para comparação de seu efeito antiobesidade com a substância purificada da *Camellia sinensis*, a EGCG. Ultimamente, essa última vem sendo muito estudada na obesidade, mostrando-se efetiva, com atuação marcada em adipócitos, levando à redução da lipogênese através de possível envolvimento com modulação mitótica da proteína

quinase (MAP), principalmente através de sinais regulatórios (ERC). Esses sinais ativariam o fator de crescimento envolvido em processos mitogênicos, suprimindo, assim, a proliferação de pré-adipócitos (25; 26). Ademais, a substância teria participação na inibição da catecol-metil-transferase (COMT), complexo enzimático responsável pela gradação de noradrenalina, o que levaria a um aumento da estimulação simpática em receptores beta adrenérgicos presentes nos adipócitos, com aumento da termogênese (27; 23; 28). Além disso, atribui-se a ela uma ação na regulação da absorção de gorduras através de bloqueio em algumas enzimas a nível intestinal, como a amilase e lipase pancreática, dentre outras (26).

Entre as medidas murinométricas, a medida da circunferência abdominal vem ganhando destaque por seu envolvimento em fatores de risco para doenças neurovasculares e cardiovasculares (29; 30). No nosso estudo foram feitas medidas da circunferência torácica e abdominal, antes e após o uso das drogas, com a finalidade de avaliar o emagrecimento dos ratos, não extrapolando para o significado populacional dessas medidas. No presente trabalho, interpretando as medidas de circunferência torácica e abdominal, constatamos que, depois do tratamento, o grupo OEGCG apresentou menor medida do tórax que o OSAL e OSIB, aproximando-se do grupo controle (Figura 8), enquanto que as medidas do abdômen foram menores nos grupos OSIB e OEGCG após uso das drogas (Figura 9). Evidenciamos, desta forma, que o uso da EGCG foi efetivo na redução de gordura da parede torácica e que as duas drogas reduziram a medida abdominal nos dois grupos (OSIB e OEGCG).

Em relação ao IMC, como já era esperado, verificou-se que o grupo obeso tinha IMC acima do grupo controle antes do tratamento e que, com o uso das drogas, houve queda significativa do índice só para os dois grupos tratados (Figura 10). O IMC ou Índice de Quetelet, descoberto desde o século XVII por Adolphe Quetelet, é uma medida usada mundialmente e que, por ser barata, de fácil mensuração e satisfatória, se encontra bem estabelecida para o diagnóstico dos desvios alimentares e suas implicações na saúde (29; 31; 14). Em ratos, pode ser usado também o índice de Lee, que relaciona a raiz cúbica do peso em gramas pelo comprimento nasoanal em centímetros. A utilização do IMC em nosso trabalho se deve à equiparação com o índice de Lee, pois eles mostram correlação significativa e positiva para o diagnóstico de obesidade (14).

Quanto à observância do consumo de alimentos no período pós-desmame, no nosso trabalho, houve grande variação da ingesta alimentar, mas com o predomínio de consumo da dieta Presence® pelo grupo controle. Verificou-se que o consumo alimentar de CSAL foi significativamente maior que os dos demais grupos (Figura 11). O menor consumo da dieta palatável ocidentalizada em relação ao controle Presence®, que, em geral, pode ser explicado

pelo fato da dieta hiperlipídica causar aumento da eficiência metabólica, gerando altos níveis de colesterol, triglicerídeos e glicose e, consequentemente, levando a um quadro de saciedade precoce (32).

Quanto ao consumo alimentar dos ratos, durante o uso das drogas, o trabalho mostrou que, durante os oito dias, ocorreu redução significativa do consumo no grupo de ratos que usaram sibutramina e epigallocatequina-3-galato (Figura 12). A queda de consumo correspondeu a mais de 60% de suas ingestas habituais (Tabela 8). A grande redução do consumo, em pequeno espaço de tempo, precipitou a interrupção do estudo, pois os ratos estavam entrando em completa inanição. Não ocorreu diferença de consumo alimentar entre os grupos da sibutramina e epigallocatequina-3-galato, que tiveram consumos similares no referido período.

Alguns trabalhos na literatura mostram redução de consumo e consequente perda de peso em ratos (23), mas a grande parte deles se baseia em uso de extratos da planta *Camellia sinensis*, nos quais se encontram associados vários princípios ativos, não se prestando, portanto, para estudos comparativos com substância pura e levando, assim, a certas distorções nos resultados.

Estudos usando a EGCG purificada são, em sua grande maioria, realizados em nível de metabolismo celular com análise biomolecular das proteínas envolvidas em processos de lipogênese. Existem alguns trabalhos mostrando emagrecimento com uso de catequinas por modificar o metabolismo lipídico, atuando em várias enzimas relacionadas ao metabolismo lipídico e modulando, assim, a lipogênese (12; 26; 33). Em trabalhos com humanos, propõe o efeito inibitório na adipogênese e indução de apoptose em tecido gorduroso (25).

O consumo *ad libitum* de água acompanhado durante cinco semanas no período pós-desmame imediato revelou que a ingestão média total acumulada durante o período não diferiu entre os grupos (CSAL = 1452 ml $\pm$ 18 ml; OSAL = 1444 ml $\pm$ 15ml; OSIB = 1441 ml $\pm$ 19 ml; OEGCG = 1573ml $\pm$ 72ml. P=0,08). No entanto, ao relativizar o consumo de água com sacarose e sem sacarose, observou-se que os grupos com dieta ocidentalizada e oferta de água com sacarose consumiam em torno de 60% de água com sacarose e 40% de água sem sacarose (OSAL = 58% água com sacarose e 42% de água sem sacarose; OSIB = 61% água com sacarose e 39% água sem sacarose e OEGCG = 66% de água com sacarose e 34% de água sem sacarose), indicando a preferência dos animais pela água com açúcar. Malafaia *et al.*(15), trabalhando com ratos *Wistar*, utilizou dieta padrão de biotério, suplementada com sacarose a 30%, visando à obtenção de obesidade em ratos, e foi observado ganho significativo de peso entre o 14º e 78º dia de vida. No nosso trabalho, a sacarose foi usada

conjuntamente com a dieta hiperlipídica para complementá-la durante as primeiras semanas pós-desmame, contribuindo para o modelo de dieta ocidentalizada.

Quanto às dosagens bioquímicas realizadas *post mortem*, foi observado aumento significativo de triglicerídeos e colesterol VLDL no grupo OEGCG (Tabela 9), mas ainda dentro da normalidade comparando-o com tabelas padronizadas de biotérios (anexo H). Esses achados foram divergentes da literatura, tendo em vista que existem inúmeros estudos mostrando que as catequinas, em especial a EGCG, seriam capazes de reduzir substancialmente os níveis de glicose, triglicerídeos, colesterol LDL e de elevar colesterol HDL tanto em modelo animal obeso como em humanos.

Assim, Yokozawa e colaboradores (34), estudando ratos adultos que fizeram uso de chá verde, evidenciaram bons efeitos das catequinas na oxidação lipídica, demonstrando redução de colesterol LDL e aumento de HDL. Redução importante de triglicerídeos, juntamente com a de colesterol, foi relatada por alguns autores, em estudos com humanos que fizeram uso de chá verde (35; 36). Esse estudo faz referências à melhora da sensibilidade à insulina em ratos que ingeriram catequinas do chá verde em associação com dieta hiperlipídica.

Raederstorff, Kunz e Chwager (37), trabalhando com ratos *Wistar* que fizeram uso de dieta rica em colesterol suplementada com EGCG por quatro semanas, evidenciaram redução significativa de lipídeos, com queda importante nos níveis de colesterol LDL. No achado, poderia estar envolvido o fato de que o grupo da EGCG não diferiu de peso em relação à sibutramina depois do tratamento. Mesmo assim, eles tinham nível de adiposidade abdominal maior, demonstrando que esse tipo de adiposidade poderia estar em maior concordância com alterações metabólicas. A redução do perímetro torácico diferenciada, com igualdade de peso comparada ao grupo da sibutramina, poderia ter implicações no efeito da droga, que levaria à perda maior de gordura subcutânea que de gordura intra-abdominal.

Tivemos alguns limites metodológicos. Durante os experimentos, não foi possível a obtenção de amostras sanguíneas para dosagens bioquímicas confiáveis, pois somente obtivemos pequenas amostras de sangue retiradas da cauda do animal, que não permitiram avaliação laboratorial. Foram usados alguns kits para dosagens, mas com resultados inconsistentes. Procedimentos mais invasivos como coleta de sangue em plexo orbitário ou intracardíaco demandam rigor técnico com pessoal treinado sob o risco de provocar morbimortalidade do animal. Outra limitação foi o término do tratamento em poucos dias, por debilidade dos animais tratados, pois pretendíamos dar continuidade ao experimento com posterior retirada das medicações para possível observação do retorno do peso perdido.

Exames bioquímicos, que avaliaram função hepática e renal depois do tratamento, não mostraram ocorrência de alterações em nenhum grupo com as duas drogas. Alguns estudos imputam o chá verde como possível responsável por alterações hepáticas, mas, possivelmente, só ocorreriam com o uso de chás ou extrato da planta, devido ao processo de extração dos bioativos, o que não ocorre com a substância pura EGCG (38; 38).

A pesagem das vísceras nos quatro grupos não mostrou diferenças significativas, com exceção da gordura gonadal, que foi maior no grupo EGCG (Tabela 10). A gordura gonadal faz parte da gordura abdominal estocada e parece ser mais resistente à redução de peso corporal. A medida da circunferência torácica foi menor no grupo da EGCG depois do tratamento, mantendo peso corporal semelhante ao grupo da sibutramina. Esse achado nos leva a crer que talvez tenha ocorrido remoção primariamente da gordura subcutânea em detrimento da visceral. Alguns autores defendem que a massa gorda em animais obesos pode ser removida, durante o emagrecimento, de maneira diferenciada nos vários tecidos (40). Devemos levar em consideração, também, a grande ocorrência de heterogeneidade no peso dos animais aqui estudados, podendo ter contribuído para o achado, mesmo tendo sido minimizado nos cálculos de Normalidade estatística.

Em relação aos estudos histológicos, pudemos constatar um dos achados mais importantes da nossa pesquisa. Observamos um padrão pouco evidente de esteatose no grupo EGCG e ausência de processo inflamatório (Figura 16), não ocorrendo o mesmo com o grupo controle obeso OSAL (Figura 14) e com o grupo da sibutramina (Figura 15). A EGCG poderia ter promovido redução de danos hepáticos, decorrente do acúmulo de gordura, pelo seu poder antioxidativo, ou mesmo ter impedido o acúmulo dos mesmos. Nossos achados corroboram com os de Schmitz e colaboradores (41) que demonstraram atividade hepatoprotetora do extrato alcoólico da *Camellia sinensis* em fígados de ratos lesados pelo dietilnitrosamina (DNT), em diferentes momentos de uso, mostrando sua importante ação, principalmente de forma preventiva nas lesões hepáticas. Achados de normalidade renal e cardíaca sugerem neutralidade para as duas drogas a nível histológico.

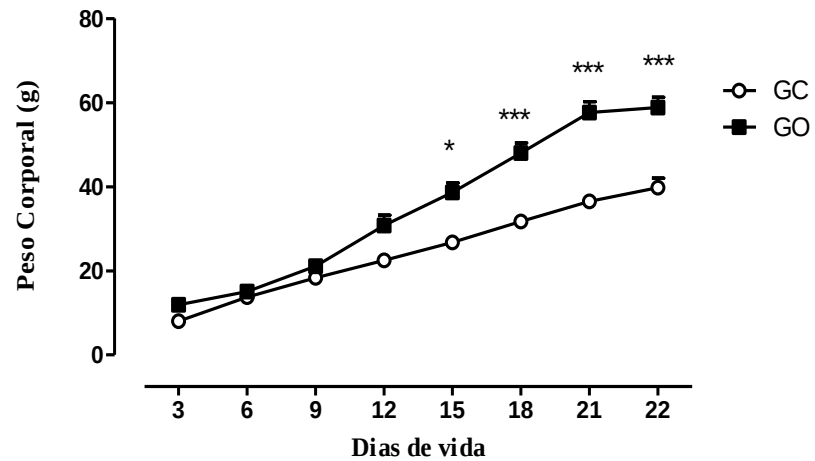
Em relação às dietas e suas repercussões sobre o fígado podemos sugerir que a dieta Presence® usada comumente nos biotérios não parece ser muito adequada para esses animais por gerar certo grau de esteatose (Figura 13), podendo, assim, interferir nos resultados de pesquisas. Talvez fosse mais conveniente produzir dietas com teores de gordura e carboidrato mais adequados para roedores, com orientação nutricional visando à neutralidade nas pesquisas. Quanto à dieta ocidentalizada referida no nosso trabalho, com uso de sacarose,

variada e permutada com a dieta padrão, a mesma mostrou ser bastante eficaz na obtenção do modelo de obesidade e em provocar acúmulo de gorduras e processo inflamatório hepático.

5. CONCLUSÃO

A Epigallocatequina-3-galato foi capaz de promover redução de consumo alimentar e peso dos ratos obesos e o fez na mesma intensidade que da sibutramina. O uso da substância levou à prevenção ou talvez até o tratamento da esteatose hepática e esteato hepatite produzida por dieta ocidentalizada. Estudos bioquímicos e histológicos não refletiram toxicidade com o uso da substância. A redução da cria, no período de lactação dos ratos e com intuito de promover obesidade, mostrou-se consistente; porém, observou-se que o excesso de peso não persistiu após desmame da mesma. Não foi observada redução de glicose ou lipídeos ao menos quando previamente normais. Diante dos resultados obtidos, concluímos que a EGCG mostrou ser eficaz no emagrecimento de ratos, necessitando, entretanto, de mais estudos, principalmente em humanos e com doses diversificadas, visando a uma melhor avaliação da substância como droga antiobesidade para futuro uso na população.

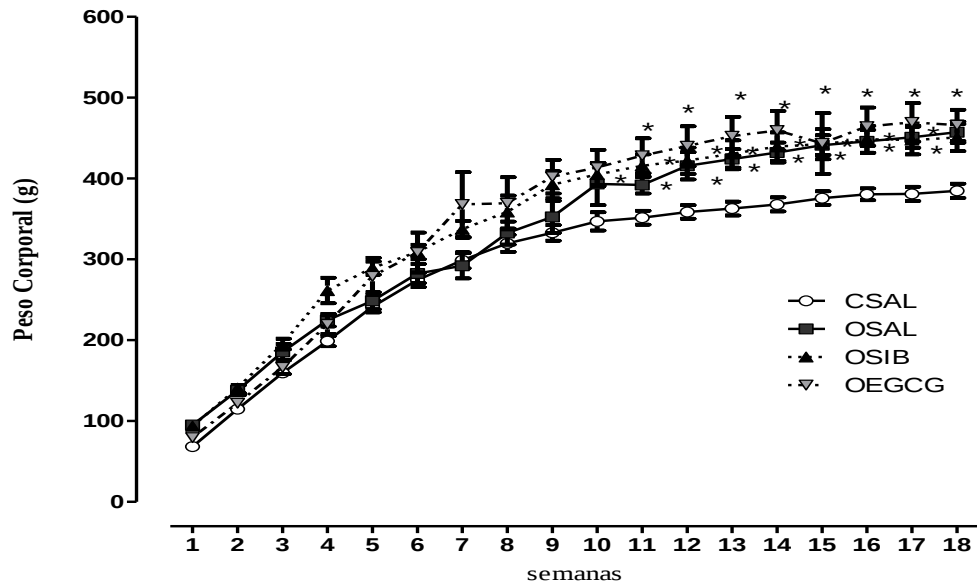
Figura 5- Acompanhamento do peso corporal durante a lactação segundo a manipulação do número de filhotes por ninhada e uso de dieta.



Valores expressos em média $\pm$ EPM. GC=grupo controle; GO= grupo ocidentalizada. Estudo composto por 13 ninhadas (n=13). GC com três ninhadas de nove animais em aleitamento e GO com dez ninhadas de três animais em aleitamento. Teste two way RM ANOVA seguido do pós teste de Bonferroni ($P < 0,05$). *Indica significância de GC em relação a GO ($p < 0,05$). *P vc GC.

Fonte: Dados da pesquisa.

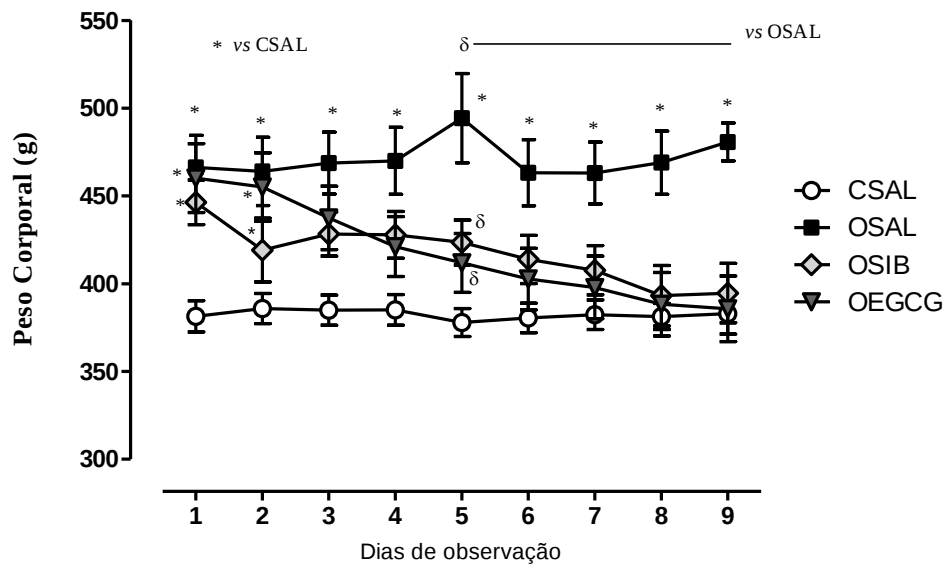
Figura 6- Acompanhamento semanal do peso corporal após o desmame dos ratos. Evolução dos quatro grupos: CSAL (controle salina). OSAL (ocidentalizada salina). OSIB (ocidentalizada sibutramina). OEGCG (ocidentalizada epialocatequina-3-galato).



Os valores representam a média $\pm$ EPM (n= 6 a 8/grupo). *Estatisticamente significativo em relação ao grupo controle a partir da 11ª. semana de observação. Teste *two way* RM ANOVA seguido de Bonferroni. $P < 0,05$. *P vc CSAL.

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 7- Variação do peso corporal durante o tratamento de oito dias com salina, sibutramina ou Epigallocatequina-3-galato.



Dados expressos em média e erro padrão da média (EPM), de 6 a 8 animais por grupo. Grupos: CSAL (controle salina); OSAL (ocidentalizado salina); OSIB (ocidentalizado sibutramina); OEGCG (ocidentalizado epigallocatequina-3-galato). *Estatisticamente significativa. Teste two way RM ANOVA seguido de Bonferroni. $P<0,05$. * $P<vs$ CSAL; $\delta P<vs$ OSAL.

Fonte: Dados da pesquisa.

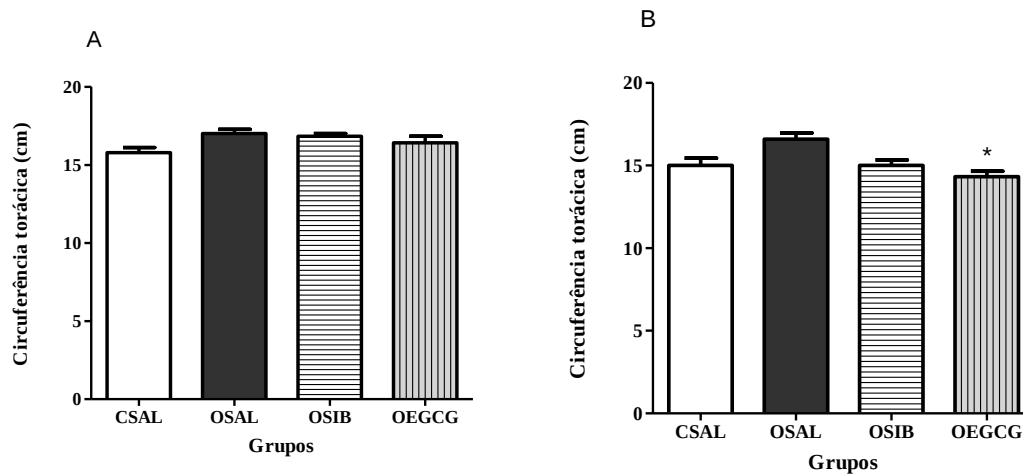
Tabela 7- Variação percentual do peso corporal antes e depois da aplicação das drogas ou salina por oito dias.

GRUPO	DROGA	VARIAÇÃO DE PESO (%)
CSAL (7)	Salina	Não alterou
OSAL (5)	Salina	Houve aumento de 6%.
OSIB (5)	sibutramina	Houve redução de 12%
OEGCG (6)	EGCG	Houve redução de 16%

Teste t de student pareado. Antes e depois de cada unidade amostral de cada grupo. Cada um grupo é controle de si mesmo. $P<0,05$.

Fonte: Dados da pesquisa.

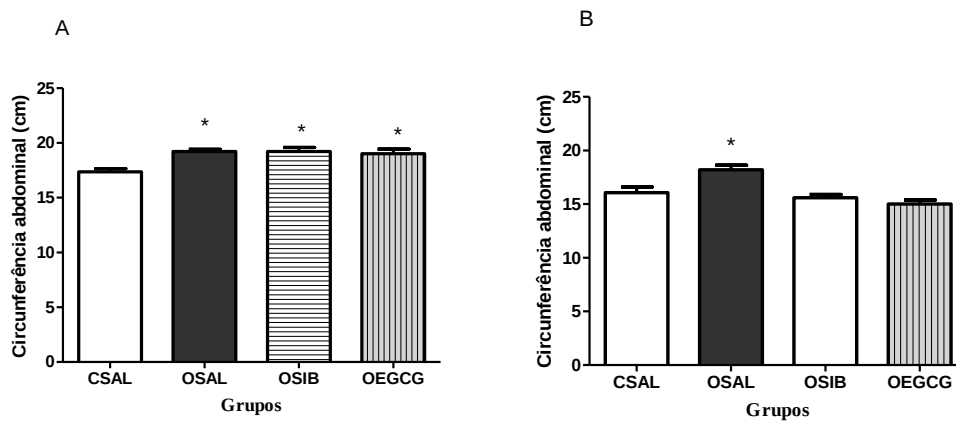
Figura 8- Valores da Circunferência torácica, antes (A) e depois dos tratamentos (B).



Grupos: CSAL (controle salina); OSAL (ocidentalizado salina); OSIB (ocidentalizado sibutramina); OEGCG (ocidentalizada epigalocatequina-3-galato). Número de 6 a 8 animais por grupo. Teste *one way* ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni. A= * $P < 0,05$ vs CSAL. B= * $P < 0,05$ OSAL

Fonte: Dados da pesquisa.

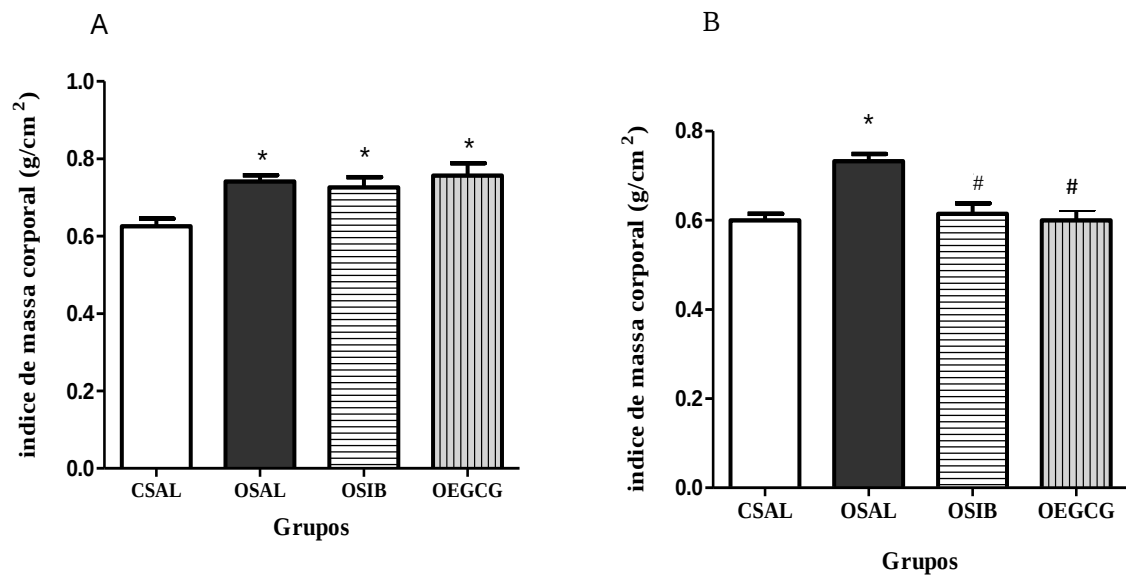
Figura 9- Valores da circunferência abdominal antes (A) e depois dos tratamentos (B).



Grupos: CSAL (controle salina); OSAL (ocidentalizada salina); OSIB (ocidentalizada sibutramina); OEGCG (ocidentalizada epigalocatequina-3galato). Número de 6 a 8 animais por grupo. $P < 0,05$. Teste *one way* ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni. A: * $P < 0,05$ vs CSAL. B: * $P < 0,05$ vs CSAL, OSIB e OEGCG.

Fonte: Dados da pesquisa.

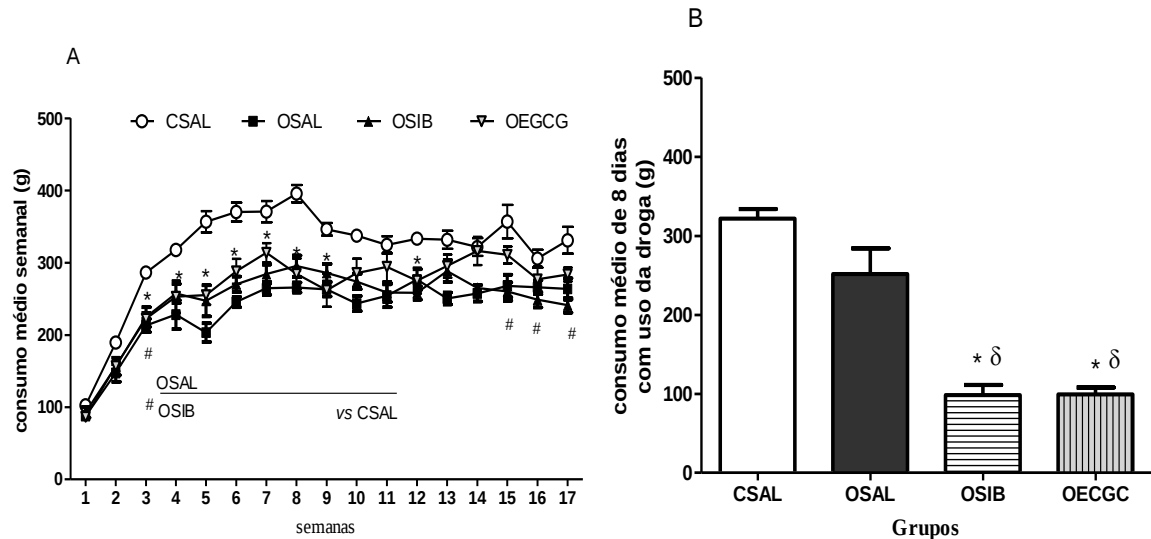
Figura 10- Valores de IMC antes (A) e depois dos tratamentos (B).



Grupos: CSAL (controle salina); OSAL (ocidentalizada salina); OSIB (ocidentalizada sibutramina); OEGCG (ocidentalizada epigallocatequina-3-galato). Número de 6 a 8 animais por grupo. $P < 0,05$. Teste one way ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni. A: * $P < 0,05$ vs CSAL. B: # $P < 0,05$ vs OSAL.

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 11- Consumo alimentar dos roedores. (A) Consumo de alimento durante 17 semanas após desmame. (B) consumo diário durante oito dias de tratamento.



Grupos: CSAL (controle salina). OSAL (ocidentalizada salina). OSIB (ocidentalizada sibutramina). OEGCG (ocidentalizada epialocatequina-3-galato). Número de 6 a 8 animais por grupo. ANOVA seguida pelo pós-teste de Bonferroni. $P < 0,05$. A: mostra o consumo médio semanal do grupo CSAL maior que os grupos OSAL, OSIB e OEGCG a partir da 3ª até a 12ª semana, não ocorrendo mais diferenças após a 13ª semana entre CSAL e OEGCG até a 15ª semana quando novamente passa a existir o consumo maior de CSAL. B: mostra o consumo alimentar de oito dias durante o período de uso drogas. Gráfico A = * $p < 0,05$ OEGC vs CSAL; e # $p < 0,05$ OSIB e OSAL vs CSAL. Gráfico B = * $p < 0,05$ vs CSAL e δ $p < 0,05$ vs OSAL.

Fonte: Dados da pesquisa.

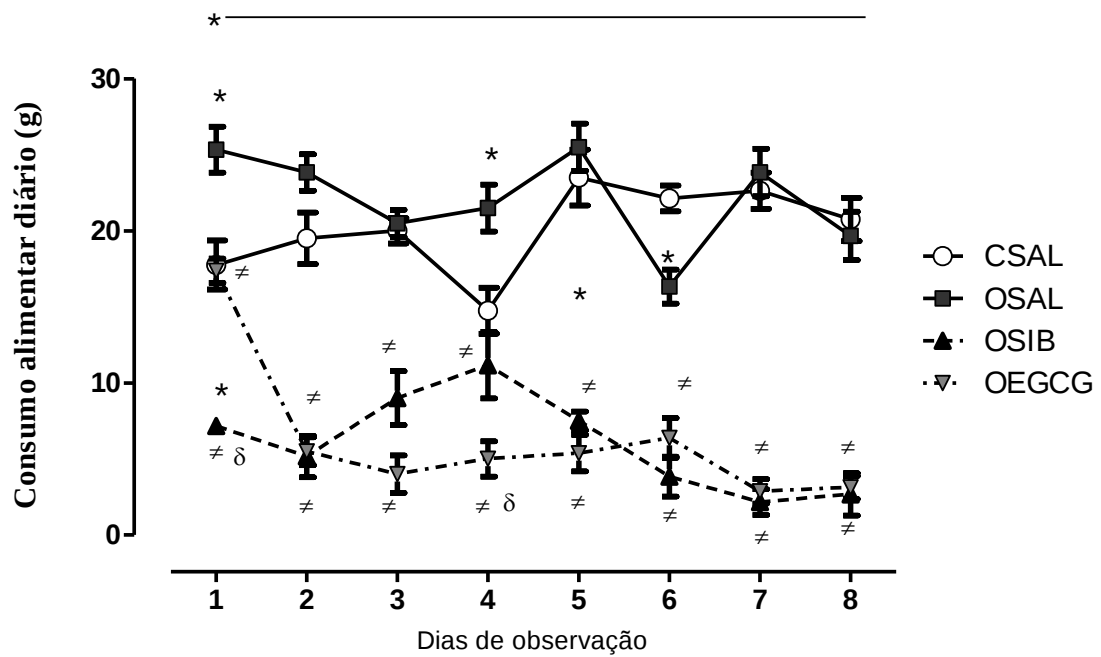
Tabela 8- Variação percentual do consumo alimentar durante oito dias do uso das drogas ou salina.

GRUPO	DROGA	VARIACÃO NO CONSUMO ALIMENTAR (%).
CSAL (5)	salina	Não alterou
OSAL (5)	salina	Não alterou
OSIB (5)	sibutramina	Houve redução de 62%
OEGCG (5)	EGCG	Houve redução de 68%

Teste t de student pareado. Antes e depois de cada unidade amostral de cada grupo. $P < 0,05$.

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 12- Consumo alimentar durante oito dias de tratamento.



Grupos: CSAL (controle salina). OSAL (ocidentalizada salina). OSIB (ocidentalizada sibutramina).

OEGCG (ocidentalizada epialocatequina-3-galato). Número de 6 a 8 animais por grupo. Consumo alimentar durante o tratamento com sibutramina ou epigallocatequina. Dados expressos em $\pm$ DP. Teste ANOVA two way de medidas repetidas, seguido pelo pós-teste de Bonferroni. * $p < 0,05$ vs CSAL; *-----

OSIB e EGCG vs CSAL; # $p < 0,05$ vs OSAL; δ $p < 0,05$ vs OSIB

Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 9- Valores bioquímicos de ratos após oito dias consecutivos de tratamento com salina, sibutramina e Epigallocatequina-3-galato.

Exames (mg/dl)	CSAL, n=8	OSAL, n=7	OSIB, n=7	OEGCG, n=8	P
Glicose	170,3 ± 9,25	166,1±12,45	171,1±12,39	158,1 ± 8,23	P < 0,05
Ureia	33,38 ± 1,50	37,24 ± 2,27	34,26 ± 1,88	31,18 ± 2,08	p < 0,05
Creatinina	0,28 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,33 ± 0,04	0,32 ± 0,02	P < 0,05
TGP/ALT	51,71±2,68	43,37±1,73	44,67± 2,21	46,28± 4,52	p < 0,05
TGO/AST	152,0±10,13	142,3±10,40	174,1±13,15	175,2±11,98	P < 0,05
Fosfatase alcalina	180,5±18,19	164,6±18,66	121,5±13,78	169,3±14,76	P < 0,05
Triglicerídeos*	39,76 ± 5,34	33,76 ± 2,71	39,0 ± 2,94	*80,85±9,00	*p <0,05
Colesterol total	58,63 ± 5,88	63,09 ± 3,19	50,4 ± 4,43	58,76 ± 5,64	P < 0,05
Colesterol HDL	37,49 ± 2,19	36,47 ± 1,98	30,36±3,26	36,92 ± 3,68	P <0,05
Colesterol LDL	17,98 ± 5,42	21,88 ± 3,32	11,40 ± 2,09	13,93 ± 1,37	p <0,05
ColesterolVLDL*	7,37 ± 1,11	6,40 ± 0,24	7,33 ± 0,33	*16,13±1,75	*p <0,05

Grupos: CSAL (controle salina). OSAL (ocidentalizado salina). OSIB (ocidentalizado sibutramina).

OEGCG (ocidentalizado EGCG). Os valores representam a média ± E.P.M

(n= grupos de 7 e 8 animais). *Estatisticamente diferentes do grupo controle

(ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni, p< 0,05).

Fonte: Dados da pesquisa.

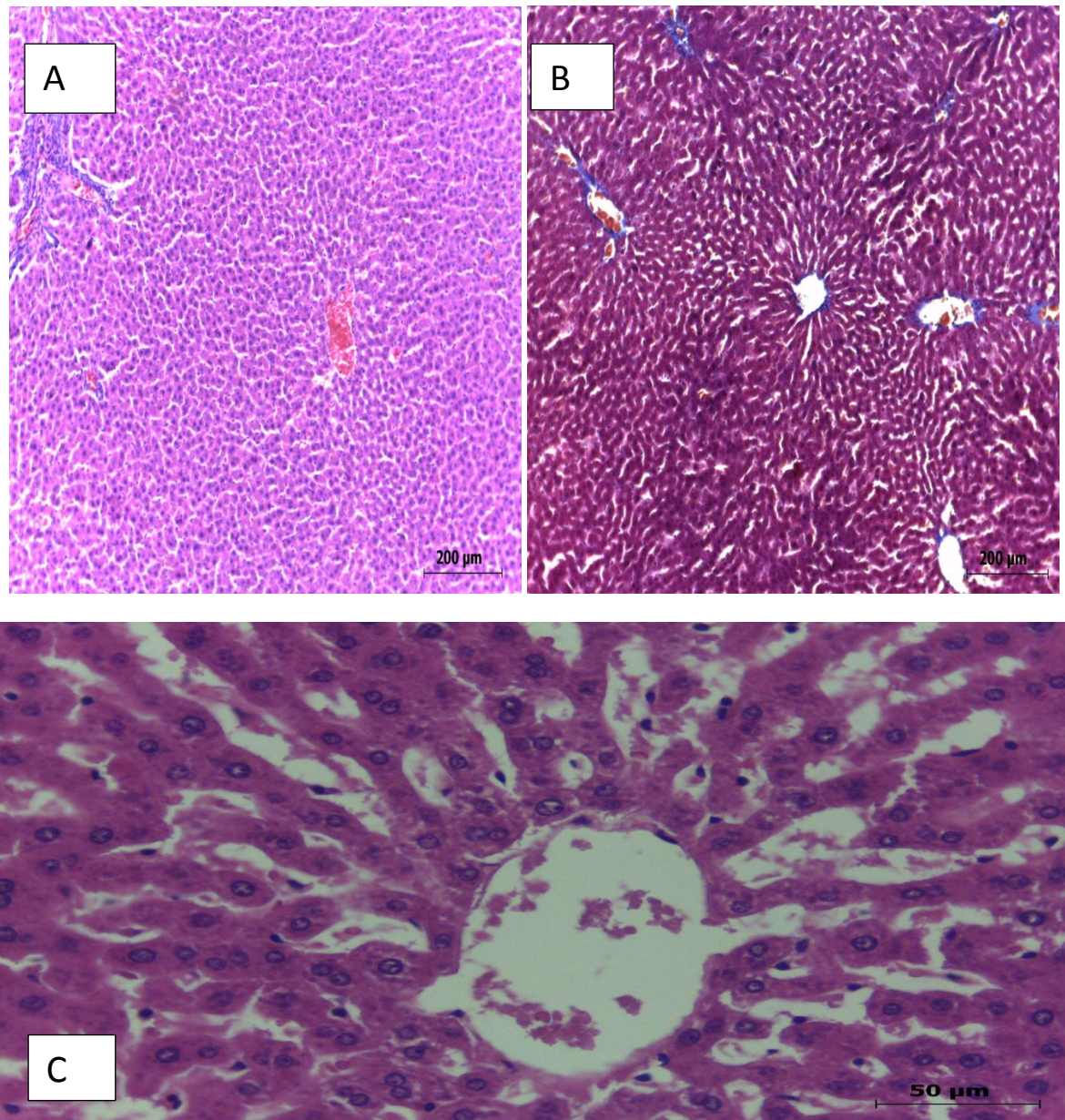
Tabela 10- Peso relativo (g/100) dos órgãos dos ratos após oito dias de tratamento consecutivos com salina, sibutramina e Epigallocatequina-3-galato.

ÓRGÃOS	CSAL, n=7	OSAL, n=5	OSIB, n=6	OEGCG, n=6	p
Fígado	2,53±0,12	2,58 ± 0,12	2,67 ±0,05	2,85 ± 0,17	P < 0,05
Coração	0,38±0,14	0,36 ± 0,03	0,33 ±0,01	0,37 ± 0,02	P < 0,05
Estômago	0,41±0,01	0,36 ± 0,01	0,41 ±0,01	0,37 ± 0,04	P < 0,05
Rim direito	0,37±0,02	0,36 ± 0,02	0,34 ±0,00	0,36 ± 0,01	P <0,05
G g	1,39±0,26	2,73 ±0,07*	2,66 ±0,19	2,99 ± 0,43*	*P < 0,05
G r	1,98±0,37	2,64 ± 0,44	3,26 ±0,38	3,15 ± 0,60	p< 0,05
G a	3,37±0,48	5,37 ± 0,40	5,59 ±0,57	6,09 ± 1,05	P< 0,05

Grupos: CSAL (controle salina). OSAL (ocidentalizado salina). OSIB (ocidentalizado sibutramina). OEGCG (ocidentalizado EGCG). Os valores representam a média ± E.P.M. (n= grupos de 5, 6 e 7 animais). Gg: gordura gonadal; G r: gordura retroperitoneal; G a: gordura abdominal. * Estatisticamente diferentes do grupo controle (ANOVA seguido do pós-teste de Bonferrone, p< 0,05).

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 13- Fotomicrografias de porções de fígado dos animais do grupo CSAL.

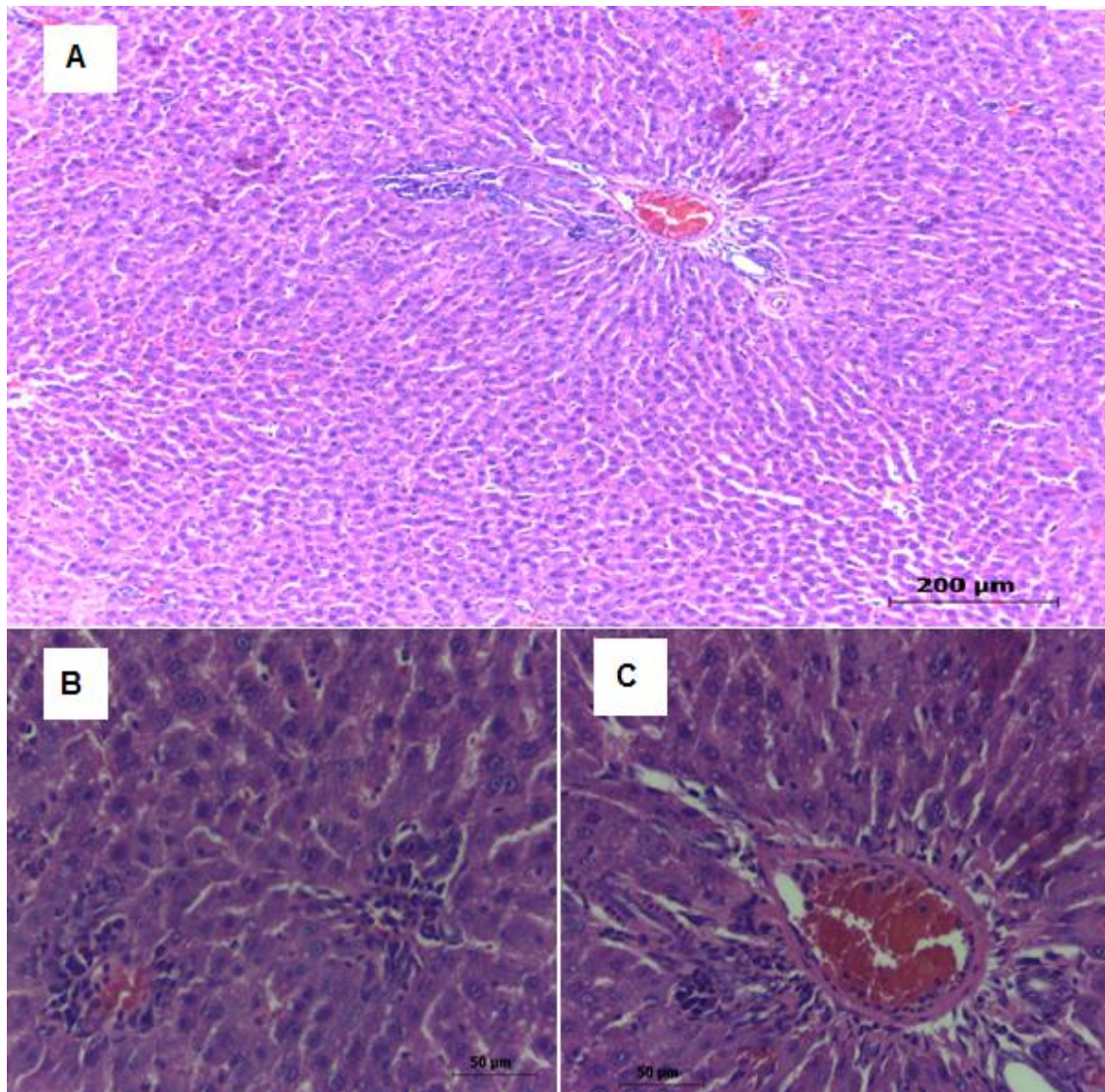


Fotomicrografias de porções de fígado de animais do grupo CSAL: Observar arquitetura hepática conservada em A e B, porém em maior aumento é possível observar discreta esteatose (C).

A e C col Hematoxilina e eosina (HE); B- col tricrômico de Gomori.

Fonte: Dados da pesquisa.

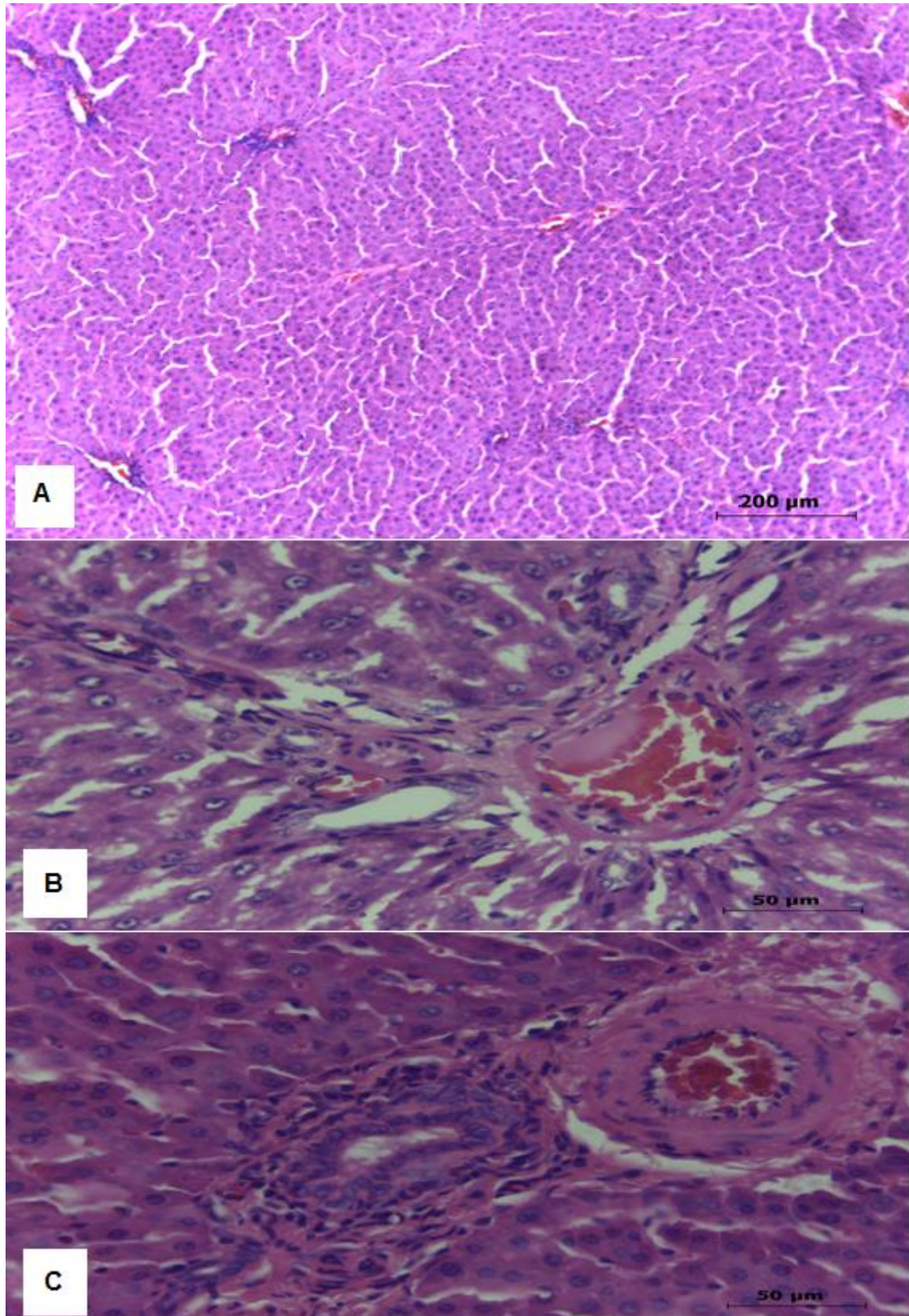
Figura 14- Fotomicrografias de porção de fígado de animais do grupo OSAL.



Fotomicrografias de porções de fígado com preparações em hematoxilina-eosina do grupo OSAL. Observar em B e C esteatose hepática mais evidente que no grupo CSAL, bem como, presença de maior quantidade de infiltrado inflamatório. Col Hematoxilina e eosina (HE).

Fonte: Dados da pesquisa.

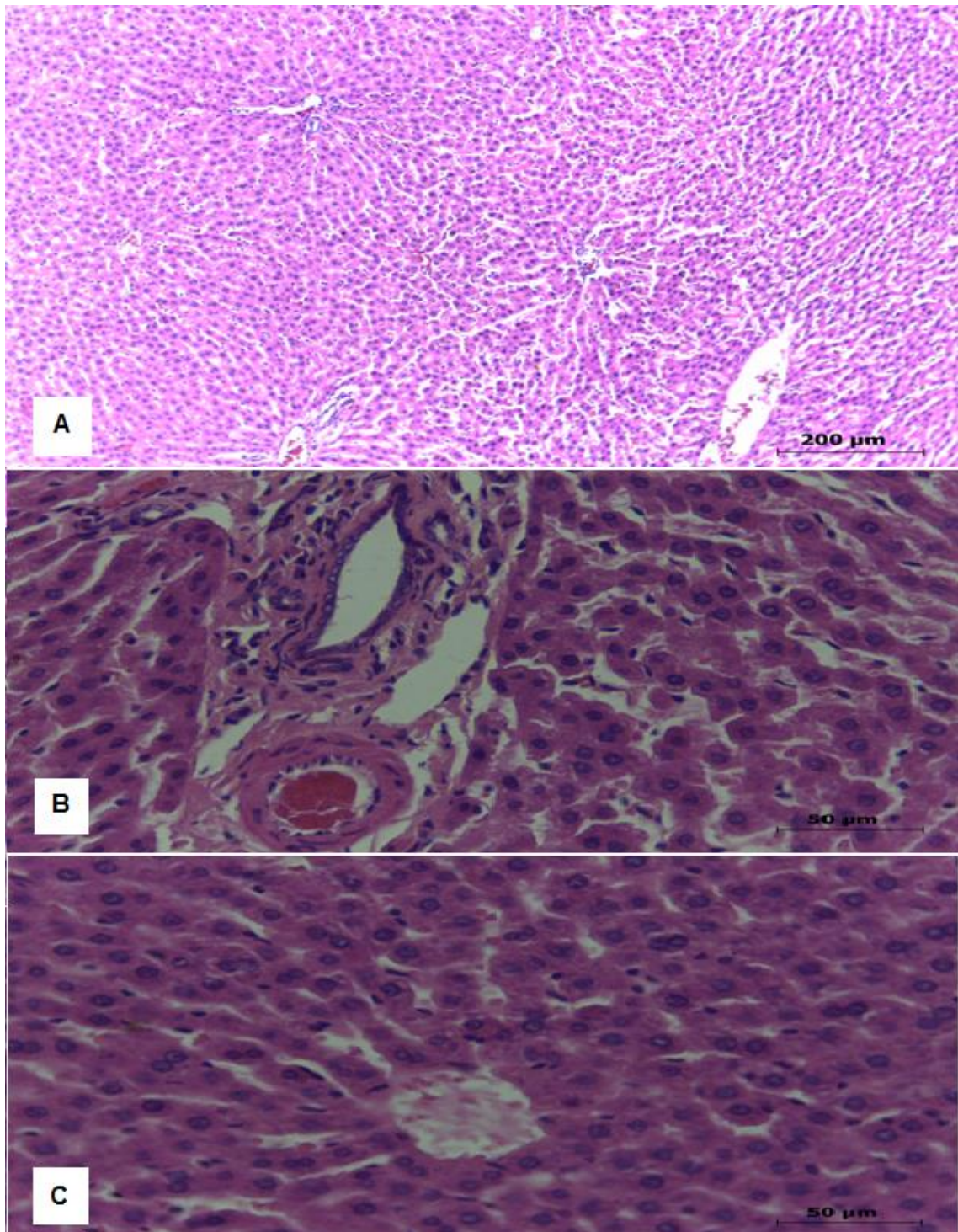
Figura 15- Fotomicrografias de porções de fígado de animais do grupo OSIB.



Fotomicrografias de porções de fígado de animais do grupo OSIB. Observar presença de esteatose hepática (A e B) e infiltrado inflamatório (C). Col Hematoxilina e eosina (HE).

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 16- Fotomicrografias de porções de fígado de animais do grupo OEGCG.



Fotomicrografias de porções de fígado de animais do grupo OEGCG. Preparações em hematoxilina-eosina. A= Observar ausência de esteatose e infiltrado inflamatório. Col Hematoxilina e eosina (HE).

Fonte: Dados da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. LAMARÃO, R.C.; FIALHO, E. Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e suas relações, **Revista de Nutrição**, v. 22 (2), p. 257-269, 2009.

2. ALTERIO A. A.; FAVA D. A. F.; NAVARRO F. Interação da ingesta diária de chá verde (*Camellia sinensis*) no metabolismo celular e na célula adiposa promovendo emagrecimento. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 1(3). p. 27-37, 2007.

3. IBGE. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância Sanitária. Vigitel Brasil 2009. Pesquisa de Orçamentos Familiares (2008-2009). 2011. **Dispõe sobre Vigilância dos fatores de risco e proteção para doenças crônicas**. 2010.150p.

4. NISSEN, L.P.; VIEIRA, L.H.; BOZZA, L.F.; VEIGA, L.T.; BISCAIA, B.F.L.; PEREIRA, J.H.; FURLAN, L.H.P. Intervenções para tratamento da obesidade: revisão sistemática. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 7 (24), p. 184-90, 2012.

- 5 ANVISA, Agência Nacional Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 50/2014, 24 de setembro de 2014. **Dispõe sobre a nova regulamentação técnica de anorexígenos**. Disponível em: <<https://crfrs.org.br/portal/pagina/noticias-detalhes.php?idn=1199>>. Acesso em 12 dez. 2015.

6. SBCBM – Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabologia, 2011. **Cirurgia de redução de estômago cresce junto com peso do brasileiro**. Disponível em: <<http://veja.abril.com.br/noticia/saude/cirurgia-de-reducao-de-estomago-cresce-junto-com-peso-do-brasileiro>>. Acesso em 11 dez.2014.

7. SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G. MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC/Editora da Universidade-UFRGS, 2001. 1104p.

8. HAN, D.W.; PARK, Y.H.; KIM, K.K.; LEE, K.Y.; HYON, S.H.; SUH, H.; PARK, J.C. Effects of green tea polyphenol on preservation of human saphenous vein, **Journal of Biotechnology**, v.110, p. 109-117, 2004.

9. AHMAD, R. S.; BUTT, M. S.; SULTAN M. T.; MUSHTAQ, Z.; AHMAD, S.; DEWANJEE, S.; FEO, V. D.; HAQ, M. Z. U. Preventive role of green tea catechins from obesity and related disorders especially hypercholesterolemia and hyperglycemia. **Journal of Translational Medicine**, v 13. p 79, 2015.

10. CHEN, D.; WANG, C.Y.; LAMBERT, J.D.; AI, N.; WEISH, W.J.; YANG, C.S. Inhibition of human liver catechol-o- methyl transferase by tea catechins and their metabolites: structure-activity relationship and molecular-modeling studies. **Biochemical Pharmacology**, v. 69. p. 1523-31, 2005.

11. SUCAR, D. D.; SOUGEY, E. B.; NETO, J. B. Surto psicótico pela possível interação medicamentosa de sibutramina com finasterida. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 24 (1), p. 30-33, 2002.

12. ZHONG, L; FURNE, J. K.; LEVITT, M. D. An extract of black, green, and mulberry teas causes malabsorption of carbohydrate but not of triacylglycerol in healthy volunteers. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 84, p. 551–555, 2006.

13. NERY, C.S.; PINHEIRO, I.L.; MUNIZ, G.S.; VASCONCELOS, D.A.A.; FRANÇA, S.P.; NASCIMENTO, E. Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhada reduzida na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 17 (1), p. 49-55, 2011.

14. NOVELLI, ELB; DINIZ, YS GALHARDI, CM; EBAID, GMX; RODRIGUES, HG; MANI, F. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v. 41, p. 111-9, 2007.

15. MALAFAIA, A. B.; NASSIF, P. A. N.; RIBAS, C. A. P. M.; ARIEDE, B. L.; SUE, K. N.; CRUZ, M. A. Indução de obesidade com sacarose em ratos / Obesity induction with high fat sucrose in rats. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 26 (1), p. 17-21, 2013.

16. PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P.; LANCHETA JR, A. H. Obesidade: Hábitos Nutricionais, Sedentarismo e Resistência à Insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 47 (2), 2003.

17. SOUZA, S. L.; CASTRO, R. M.; NOGUEIRA, M. I. Comportamento alimentar neonatal. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 3, p. 241-246, 2003.

18. MCMILLEN, I. C.; ADAM, C. L.; MÜHLHÄUSLER, B. S. Early origins of obesity: programming the appetite regulatory system. **The Journal of Physiology**, v. 15 (565), p. 9-17, 2005.

19. PLAGEMANN A.; HARDER, T.; RAKE, A.; VOITS, M.; FINK, H.; ROHDE, W.; DÖRNER, G. Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergetic neurons, and syndrome X-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. **Brain Research**, v. 836 (31), p. 146–155, 1999.

20. XIAO, X. Q.; WILLIAMS, S. M.; GRAYSON, B. E.; GLAVAS, M. M.; COWLEY, M. A.; SMITH, M. S.; GROVE, K. L. Excess weight gain during the early postnatal period is associated with permanent reprogramming of brown adipose tissue adaptive thermogenesis. **Endocrinology**, v.148 (9), p. 4150- 4159, 2007.

21. CAVALCANTE, T.C.F; SILVA, J.M.L.;SIVA, A. A. M.; MUNIZ, G.S.; NETO, L. M. N.; SOUZA, S. L.; CASTRO, R. M.; FERRAZ, K. M.; NASCIMENTO E. Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. **Lipids**, v. 48(11), p. 1157-1168, 2013.

22. NEPOMUCENO, T. M.; CIRILO M. A. **Estratégia para detectat outliers em dados de produção**. Rev. Bras. Biom, v. 27 (4), p 538-547, 2009.

23. KAO, Y. H.; HIIPAKKA, R. A.; LIAO, S. Modulation of Endocrine Systems and Food Intake by Green Tea Epigallocatechin Gallate. **Endocrinology**, v. 141 (3), p. 980-987, 2000.

24. CHOO, J. J. Green tea reduces body fat accretion caused by high-fat diet in rats through beta-adrenoceptor activation of thermogenesis in brown adipose tissue. **Journal Nutrition Biochememical**, v.14 (11), p. 671-676, 2003.

25. LIN, J.; DELLA-FERA, M.A.; BAYLE, C.A. Green tea polyphenol epigallocatechin gallate inhibits adipogenesis and induces apoptosis in 3T3-L1 adipocytes. **Obesity research**, v. 13, p. 6.982-990, 2005.

26. HUNG, P.F.; WU, B.T.; CHEN, H.C.; CHEN, Y.H.; CHEN, C.L.; WU MH, LUI, H.C.; LEE, M.J.; KAO, Y.H. Antimitogenic effect of green tea (-)-epigallocatechin gallate on 3T3-L1 preadipocytes depends on the ERK and Cdk2 pathways. **American Journal Physiology Cellular**, v. 288, p.1094- 1108, 2005.

27. RESENDE, F. C. P.; CORDEIRO, R.; NAVARRO, F. O papel do chá verde na alteração da composição corporal de indivíduos obesos sedentários. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 3 (18) , p. 529-536, 2009.

28. DULLOO, A. G.; SEYDOUX, J.; GIRARDIER, L.; CHANTRE, P.; VANDERMANDER, J. Green tea and thermogenesis: interactions between catechinpolyphenols caffeine and sympathetic activity. **Int J Obes Relat Disorb**, v. 24 (2), p. 252-258, 2000.

29. PELEGRINI, A.; SILVA, D.A.S.; SILVA,J.M.F.L.; GRIOLLO L.; PETROSKI, E.L. Indicadores antropométricos de obesidade na predição de gordura corporal elevada em adolescentes. Disponível em: <www.rpped.com.br>. Acesso em: 31 jan. 2015.

30. MARTINS I. S.; MARINHO, S.P. The potential of central obesity antropometric indicators as diagnostic tools. **Revista de Saúde Pública**, v. 37 (6), p. 760-767, 2003.

31. JACQUES, F.O.; TIYO, R. Tratamento da obesidade com sibutramina. **Uningá Review**, v. 11(2), p.32-47, 2012.

32. SANTOS, A. C. A.; LOPES, A. C. T.; *et al.* Estudo biométrico de ratos SANTOS, A. alimentados com dois tipos de dieta. **Colloquium Vitae**. v. 2 (2), p. 1-5, 2010.

33. NAGÃO, T.; KOMINE, Y.; SOGA, S.; MEGURO, S.; HASE, T.; TANAKA, Y.; TOKIMITSU, I. Ingestion of a tea rich in catechins leads to a reduction in body fat and malonaldehyde modified LDL in men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 122-129, 2005.
34. YOKOZAWA, T.; NAKAGAWA, T.; KITANI, K. Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50 (12), p. 3549-3552, 2002.
35. TEXEIRA, S. S.; ZANCANARO, V.; SANTOS, P. Eficácia da utilização crônica de infusão de chá verde (*Camellia sinensis*) na redução do colesterol total, colesterol – LDL plasmático e índice de massa corporal em pacientes com hipercolesterolemia. **Ágora Revista de divulgação científica**, v. 16 (2), 2009.
36. OYAMA, L.M. Estudo dos efeitos da galato-3-epigallocatequina sobre a secreção de adipocinas, a via de sinalização do TLR4 e do NF-B em adipócitos- estudo in vivo e in vitro. **FAPESP. Biblioteca virtual**. 2011. Disponível em: <<http://www.bv.fapesp.br/pt/auxilios/28260/estudo-dos-efeitos-da-galato-3-epigallocatequina-sobre-a-secrecao-de-adipocinas-a-via-de-sinalizacao-/>>. Acesso em 12 set. 2014.
37. RAEDERSTORFF, D.; KUNZ, I.; SCHWAGER, J. Resveratrol, from experimental data to nutritional evidence: the emergence of a new food ingredient. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1290, p.136-141, 2013.
38. SOUZA, A. F. M. Hepatotoxicidade por chás. **GED - Gastroenterologia e Endoscopia Digestiva**, v 30 (1), p. 06-47, 2011.
39. BJORSON, E.; OLSON, R. Serious adverse liver reactions associated with herbal Weight-loss supplements. **Journal Hepatology**, v. 47, p. 295-302, 2007.
40. NAKAZATO, K.; SONG, H.; WAGA, T. Effects of dietary apple polyphenol on adipose tissues weights in Wistar rats. **Experimental Animal**, v. 55(4), p. 383-389, 2006.

41. SCHMITZ, O. S.; CECCHINI R.; ESTEVÃO D.; SARIDAKIS H. O. Atividade hepatoprotetora do extrato alcoólico da *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (chá-verde) em ratos Wistar tratados com dietilnitrosamina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v 19 (3), p. 702-709, 2009.

5. CONCLUSÕES

Ao término do trabalho, concluímos que todas as hipóteses formuladas foram comprovadas nesse estudo. A Epigallocatequina-3-galato foi capaz de promover perda de peso significativa em ratos e o fez com a mesma intensidade que a sibutramina. Foi observada, também, redução importante do consumo alimentar, similar à sibutramina.

Estudos histológicos mostraram que o uso da epigallocatequina-3-galato em ratos obesos com hepatite ou esteato hepatite foi capaz de reduzir ou prevenir a ocorrência das mesmas. Não foi observada toxicidade para coração e rins, demonstrada bioquímica ou histologicamente com o uso da droga.

O modelo de Cria reduzida se mostrou eficaz na produção de obesidade. Porém, não conseguiu ser sustentado na idade adulta. A dieta ocidentalizada variada, suplementada com sacarose nos primeiros meses de vida e intercalada com dieta padrão Presence®, se mostrou eficaz em produzir obesidade em curto período de tempo e provocou esteatose hepática e hepatite gordurosa nos animais.

A Epigallocatequina-3-galato não levou à redução de peso visceral, e o emagrecimento pode estar acontecendo de forma diferenciada, com uma maior remoção da gordura da carcaça em relação à visceral.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, ficamos absolutamente satisfeitos ao verificar que um fitoterápico possui propriedades emagrecedoras similares às da sibutramina e ainda com a vantagem de reduzir o acúmulo de gordura e do processo inflamatório hepático, além de ser eficaz em ratos através do uso oral, administrado somente uma vez ao dia e independente das refeições. A substância parece ser muito promissora no tratamento da obesidade e possivelmente em suas complicações. Serão necessários mais estudos em torno da droga EGCG, inclusive visando reproduzir, em grandes ensaios clínicos, estudo comparativo com drogas antiobesidade em humanos, englobando também doses diversificadas já para sugestão de uso na população.

REFERÊNCIAS

ABESO- **Estatísticas Mundiais de Saúde**. Maio de 2012. Disponível em: <<http://www.abeso.org.br/noticia/oms-obesidade-mata-28-milhoes-por-ano>>. Acesso em: 12 jan. 2015.

ABESO- **Anvisa Retira Anorexígenos e Mantém Sibutramina**. Outubro de 2011. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/noticia/anvisa-retira-anorexigenos-e-mantem-sibutramina>. Acesso em: 28 jan. 2016.

ADAMS, J. P.; MURPHY, P. G. Obesity in anaesthesia and intensive care. **British Journal of Anaesthesia**, v. 85, p. 91- 108, 2000.

AHMAD, R. S.; BUTT, M. S.;SULTAN M. T.; MUSHTAQ, Z.; AHMAD, S.; DEWANJEE, S.;FEO, V. D.; HAQ, M. Z. U. Preventive role of green tea catechins from obesity and related disorders especially hypercholesterolemia and hyperglycemia. **Journal of Translational Medicine**, v 13, p 79, 2015.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 277/2005, 22 de setembro de 2005. **Dispõe sobre regulamento técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis**. Disponível em:<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/40512000474583248e6ede3fbc4c6735/informe_45.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em 11 dez.2015.

ANVISA, Agência Nacional Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 50/2014, 24 de setembro de 2014. **Dispõe sobre a nova regulamentação técnica de anorexígenos**. Disponível em: <<https://crfrs.org.br/portal/pagina/noticias-detallhes.php?idn=1199>>. Acesso em 12 dez. 2015.

ARANTES, D.V. Impacto de obesidade/sobrepeso sobre os níveis de pressão arterial na Atenção Primária à Saúde. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 2, p. 7, 2006.

ARAÚJO, R. A.; MARTEL, F. Sibutramine Effects on Central Mechanisms Regulating Energy Homeostasis. **Current Neuropharmacology**, v. 10(1). p. 49-52, 2012.

AU680, AU680 Chemistry, Au680 Sistema de Química-Beckman - **Aparelho de dosagens bioquímicas**. Disponível em: <http://www.captodayonline.com/productguides/instruments/chemistry-mid-high-june-2015/au680-chemistry-mid-high-2015.html>. Acesso em: 15 fev. 2016.

BALENTINE, D. A.; WISEMAN, A.S.; BOUWENS, L.M.C. The Chemistry of teaflavonoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 37, p. 693-704, 1997.

BARTELS, C.L.; MILLER, S.J. Dietary supplements marketed for weight loss. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 18 (2), p.156-69, 2003.

BLOCK, G.; PATTERSON, B.; SUBAR, A. Fruit, vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. **Nutrition and Cancer**, v.12 (1), p. 1-29, 1992.

BJORSON, E.; OLSON, R. Serious adverse liver reactions associated with herbal Weight-loss supplements. **Journal Hepatology**, v. 47, p. 295-302, 2007.

CABRERA, C.; ARTACHO, R.; GIMENEZ, R. Beneficial effects of green tea: a review. **The Journal of the American College of Nutrition**, v. 25, p. 79-99, 2006.

Camellia sinensis (folhas). Site: Flora of North América. Disponível em: <<http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot-units04/camellia-sinensis1509.jpg>>. Acesso em: 21 dez. 2015.

CARRATU, E.; SANZANI, E..Sostanze biologicamente ative presenti negli alimenti di origine vegetable. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanità**, v. 41, p. 7-16, 2005.

CASTRO, V. D.; GUALTIERI, K. A. G.; SAITO, A. Y.; TATAKIHARA, R. I.; ODA, J. M. M.; CUSTÓDIO, L. A.; FILHO, P. S. R. D.; TONON, J. FUJITA, T. C.; LOPES, L. F.; AMARANTE, M. K. Analysis of effects of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) of *Camellia*

sinensis (green tea) in experimental chemical model of hepatotoxicity induced by Dietihylnitrosamine (DEN). **Semina**, v.34, p. 215-228,2013.

CASTRO, J. A. Toxicologia básica- mecanismo de toxicidade e suas aplicações. **Acta bioquímica clínica latinoamericana**, v. 2, p.198-206, 1993.

Catequinas do chá verde - Disponível em: < <http://www.catequinas.weebly.com>>. Acesso em: 13 out. 2015.

CAVALCANTE, T.C.F; SILVA, J.M.L.;SILVA, A. A. M.; MUNIZ, G.S.; NETO, L. M. N.; SOUZA, S. L.; CASTRO, R. M.; FERRAZ, K. M.; NASCIMENTO E. Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. **Lipids**, v. 48 (11), p. 1157-1168, 2013.

CHEN, D.; WANG, C.Y.; LAMBERT, J.D.; AI, N.; WEISH, W.J.; YANG, C.S. Inhibition of human liver catechol-o- methyl transferase by tea catechins and their metabolites: strcture-activity relationship and moiecular-modeling studies. **Biochemical Pharmacology**, v. 69, p. 1523-31, 2005.

Cloridrato de Sibutramina - Disponível em: <http://www.medley.com.br/portal/bula/cloridrato_de_sibutramina.pdf> Acesso em: 12 out. 2014.

CHOO, J. J. Green tea reduces body fat accretion caused by high-fat diet in rats through beta-adrenoceptor activation of thermogenesis in brown adipose tissue. **Journal Nutrition Biochememical**, v.14 (11), p. 671-676, 2003.

CONSIDINI, R. V.; SINHA, M. K.; HEIMAN, M. L. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **The New England Journal of Medicine**, v. 334(5), p. 292-5, 1996.

COOPER, R.; MORRÉ D. J.; MORRÉ D. M. Medicinal benefits of green tea: part II. Review of anticancer properties. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v.11 (4), p. 639-652, 2005.

CRUZ, V..M.; NUNES, E.; MENDONÇA, L.; CHAVES, E.; FERNANDES, M.L.C.A. Efeito do chá verde em ratos com obesidade induzida. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina**, v. 46, p. 407-413, 2010.

DORNAS, W. C.; OLIVEIRA, T.; RODRIGUES, R.G.; SANTOS, A.R.; NAGERN, T.J. Flavonóides: Potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v 28, p. 241-249, 2007.

DULLOO, A. G.; SEYDOUX, J.; GIRARDIER, L.; CHANTRE, P.; VANDERMANDER, J. Green tea and thermogenesis: interactions between catechinpolyphenols caffeine and sympathetic activity, **Int J Obes Relat Disorb**, v. 24, n.2 , p. 252-258, 2000.

FERRARA, L. MONTESANO, D.; SENATORE, A. The distribution of minerals and flavonoids in the tea plant (*Camellia sinensis*).**IL Fármaco**, v. 56, p. 397-401, 2001.

FILIER, J. Obesity Wars: molecular progress confronts na expanding epidemic. **Cell Press**, v.116, p.337-350, 2004.

FRANCISCHI, R.P.P.; PEREIRA, L.O.; FREITAS, C.S.;KLOPPER, M.; SANTOS,R.C.;VIEIRA, P.; LANCHÁ JUNIOR, A.H. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, v.139 (1), p. 17-28, 2000.

FREITAS, H. C. P.; NAVARRO, F. O chá verde induz o emagrecimento e auxilia no tratamento da obesidade e suas comorbidades. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 1 (2), p. 16-23, 2007.

FRIEDMANN, J. M.; HALAAS J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, v. 395(22), p. 763-70, 1998.

FRIEDRICH, M.; PETZKE, K.J.; RAEDERSTORFF, D.; WOLFRAM, S.; KLAUS, S. Efeitos agudos da epigallocatequina galato de chá verde sobre a oxidação e incorporação de lipídios na dieta de ratos alimentados com uma dieta rica em gorduras. **International Journal of Obesity**, v. 36, p. 735-743, 2012.

HAN, D.W.; PARK, Y.H.; KIM, K.K.; LEE, K.Y.; HYON, S.H.; SUH, H.; PARK, J.C. Effects of green tea polyphenol on preservation of human saphenous vein, **Journal of Biotechnology**, v.110, p. 109-117, 2004.

HASLER, C.M. Functional foods: benefits, concerns and challenges. A position paper from the American Concil on cience and Health.. **Journal of Nutrition**, v. 132 (12), p. 3772-3781, 2002.

HERBS-TECH- **Natural Herb Extract e Carbohydrates**. Disponível em: <http://www.herbs-tech.com/product/egcg.asp>. Acesso em 04 out.2014.

HUNG, P.F.; WU, B.T.; CHEN, H.C.; CHEN, Y.H.; CHEN, C.L.; WU MH, LUI, H.C.; LEE, M.J.; KAO, Y.H. Antimitogenic effect of green tea (-)-epigallocatechin gallate on 3T3-L1 preadipocytes depends on the ERK and Cdk2 pathways. **American Journal Physioology Cellular**, v. 288, p.1094 - 1108, 2005.

IBGE. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância Sanitária. Vigitel Brasil 2009. Pesquisa de Orçamentos Familiares (2008-2009). **Dispõe sobre Vigilância dos fatores de risco e proteção para doenças crônicas**. 2010.150p.

JACQUES, F.O.; TIYO, R. Tratamento da obesidade com sibutramina. **Uningá Review**, v. 11 (2), p.32-47, 2012.

JUNG, R. T. Obesity as a disease. **British Medical Bulletin**, v. 53 (2), p. 307-321, 1997.

KAO, Y. H.; HIIPAKKA, R. A.; LIAO, S. Modulation of Endocrine Systems and Food Intake by Green Tea Epigallocatechin Gallate. **Endocrinology**, v. 141(3), p. 980-987, 2000.

LAMARÃO, R.C.; FIALHO, E. Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e suas relações, **Revista de Nutrição**, v. 22 (2), p. 257-269, 2009.

LIMA, C. M.; LIMA, A. K.; MELO, M. G. D.; DORIA, G. A. A.; LEITE, B. L. S.; SERAFI, M. R.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. M.; ARAUJO, A. A. R. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos. **Scientia Plena**, v. 10 (3), 2014.

LIN, J.; DELLA-FERA, M.A.; BAYLE, C.A. Green tea polyphenol epigallocatechin gallate inhibits adipogenesis and induces apoptosis in 3T3-L1 adipocytes. **Obesity research**, v. 13, p. 6.982-990, 2005.

LIN, J. K.; LIN-SHIAU S. Y. Mechanisms of hypolipidemic and anti-obesity effects of tea and tea polyphenols. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 50, p. 211-217, 2006.

LOEST, H.B.; NOH, S.K.; KOO, S.L. Green extract inhibits the lymphatic absorption of cholesterol and tocopherol in rats ovariectomized. **Journal of Nutrition**, v. 132 (6), p. 1282-1288, 2002.

LUIS, D. A. DE; ALLER, R. Papel de los flavonoides del té em la protección cardiovascular. **Anales de Medicina Interna**, v. 25, p. 105-107, 2008.

MALAFIA, A. B.; NASSIF, P. A. N.; RIBAS, C. A. P. M.; ARIEDE, B. L.; SUE, K. N.; CRUZ, M. A. Indução de obesidade com sacarose em ratos / Obesity induction with high fat sucrose in rats. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 26(1), p. 17-21, 2013.

MARTINS, I. S.; MARINHO, S.P. The potential of central obesity antropometric indicators as diagnostic tools. **Revista de Saúde Pública**, v. 37 (6), p. 760-767, 2003.

MELLO, E. D.; LUFT, VC; MEYER,F. Obesidade infantil: como podemos ser eficazes? **Jornal de Pediatria**, v. 80, n.3, p. 173-181, 2004.

NAGÃO, T.; KOMINE, Y.; SOGA, S.; MEGURO, S.; HASE, T.; TANAKA, Y.; TOKIMITSU, I. Ingestion of a tea rich in catechins leads to a reduction in body fat and malonaldehyde modified LDL in men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 122-129, 2005.

NASCIMENTO, J. C.; MOTA, A. K. L.; ROCHA, V. S. Evaluación del perfil nutricional y prevención de la obesidade em escolares. Um estúdio de revisão bibliográficaUm estudo de revisão bibliografia. **EFDeportes.com**, Revista Digital. v. 19 (198), 2014.

NAKAZATO, K.; SONG, H.; WAGA, T. Effects of dietary apple polyphenol on adipose tissues weights in Wistar rats. **Experimental Animal**, v. 55 (4), p.383-389, 2006.

NEPOMUCENO, T. M. ; CIRILO M. A. **Estratégia para detectat outliers em dados de produção**. Rev. Bras. Biom. v. 27(4), p. 538-547, 2009.

NERY, C.S.; PINHEIRO, I.L.; MUNIZ, G.S.; VASCONCELOS, D.A.A.; FRANÇA, S.P.; NASCIMENTO, E. Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhada reduzida na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. v. 17 (1), p. 49-55, 2011.

NISSEN, L.P.; VIEIRA, L.H.; BOZZA, L.F.; VEIGA, L.T.; BISCAIA, B.F.L.; PEREIRA, J.H.; FURLAN, L.H.P. Intervenções para tratamento da obesidade: revisão sistemática. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 7(24), p. 184-90, 2012.

NOVELLI, ELB; DINIZ, YS GALHARDI, CM; EBAID, GMX; RODRIGUES, HG; MANI, F. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v. 41, p. 111-9, 2007.

OYAMA, L.M. **Estudo dos efeitos da galato-3-epigallocatequina sobre a secreção de adipocinas, a via de sinalização do TLR4 e do NF-B em adipócitos- estudo in vivo e in vitro**. FAPESP. Biblioteca virtual. 2011. Disponível em: <<http://www.bv.fapesp.br/pt/auxilios/28260/estudo-dos-efeitos-da-galato-3-epigallocatequina-sobre-a-secrecao-de-adipocinas-a-via-de-sinalizacao-/>>. Acesso em 12 set. 2014.

PELEGRINI, A.; SILVA, D.A.S.; SILVA,J.M.F.L.; GRIOLLO L.; PETROSKI, E.L. Indicadores antropométricos de obesidade na predição de gordura corporal elevada em: adolescentes. Disponível em: <www.rpped.com.br>. Acesso em: 31 jan. 2015.

PINHEIRO, A. R. O.; FREITAS, S. F. T.; CORSO, A. C. T. Uma abordagem epidemiológica da obesidade. **Revista de Nutrição**, v. 17 (4), p. 523-533, 2004.

PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P.; LANCHA JR, A. H. Obesidade: Hábitos Nutricionais, Sedentarismo e Resistência à Insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 47, n. 2, 2003.

PIMENTEL, C.V.M.; FRANCKI, V.M.; GOLLUCKE, A.P.B. **Alimentos funcionais: Introdução as principais substâncias bioativas em alimentos**. Livraria Varela, p 95, 2005.

PLAGEMANN A.; HARDER, T.; RAKE, A.; VOITS, M.; FINK, H.; ROHDE, W.; DÖRNER, G. Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergic neurons, and syndrome X-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. **Brain Research**, v. 836 (31), p. 146–155, 1999.

RAEDERSTORFF, D.; KUNZ, I.; SCHWAGER, J. Resveratrol, from experimental data to nutritional evidence: the emergence of a new food ingredient. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1290, p.136-141, 2013.

REAVEN G. M. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**. v. 37, p. 1595-1607, 1988.

REDINGER, R. N. The Pathophysiology of Obesity and Its Clinical Manifestations. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 3 (11), p. 856–863, 2007.

RESENDE, F. C. P.; CORDEIRO, R.; NAVARRO, F. O papel do chá verde na alteração da composição corporal de indivíduos obesos sedentários. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 3 (18), P. 529-536, 2009.

ROMERO C. E. M.; ZANESCO A. O papel dos hormônios e grelina na gênese da obesidade. **Revista de Nutrição**, v.19, p 85-91, 2006.

SANDOVAL, D. A.; DAVIS, S. N. Leptin: metabolic control and regulation. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 17, p. 108-13, 2003.

SANTOS, A. C. A.; LOPES, A. C. T.; *et al.* Estudo biométrico de ratos alimentados com dois tipos de dieta. **Colloquium Vitae**, v. 2 (2), p. 1-5, 2010.

SBCBM – Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabologia, 2011. **Cirurgia de redução de estômago cresce junto com peso do brasileiro**. Disponível em: <<http://veja.abril.com.br/noticia/saude/cirurgia-de-reducao-de-estomago-cresce-junto-com-peso-do-brasileiro>>. Acesso em 11 dez.2014.

SBEM-Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. **Obesidade**. Disponível em <http://www.endocrino.org.br/prevalencia-da-obesidade-no-brasil/>. Acesso em 12 out. 2014.

SCHMITZ, W; SAITO, A.Y.; ESTEVÃO, D; SARIDAKIS, HO. Green tea as a chemoprotector. **Semina: Ciencias Biológicas e da Saúde**, v. 26 (2), p. 119-130, 2005.

SCHMITZ, O. S.; CECCHINI R.; ESTEVÃO D.; SARIDAKIS H. O. Atividade hepatoprotetora do extrato alcoólico da *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (chá-verde) em ratos Wistar tratados com dietilnitrosamina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v 19 (3), p. 702-709, 2009.

SENGER, A.L.V.; SCHWANKE, C.H.A.; GOTTLIEB, M.G.V. Chá verde (*Camellia sinensis*) e suas propriedades funcionais nas doenças crônicas não transmissíveis. **Ciências Médicas**, v. 2, p. 293-300, 2010.

SILVA, L.S.; COTTA, R.M.M.; ROSA, C.O.B. Estratégia de promoção da saúde prevenção primária para enfrentamento das doenças crônicas. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 34(5), p. 343-350, 2013.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G. MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC/Editora da Universidade-UFRGS, 2003. 1104p.

SOUZA, A. F. M. Hepatotoxicidade por chás. **GED - Gastroenterologia e Endoscopia Digestiva**. v 30 (1), p. 06-47, 2011.

SOUZA, S. L.; CASTRO, R. M.; NOGUEIRA, M. I. Comportamento alimentar neonatal. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 3, p. 241-246, 2003.

STASI, L.C.D. **Plantas medicinais: arte e ciências**. Um guia de estudo multidisciplinar. Editora UNESP; vol. 1, p. 99-100, 1995.

STATMEUP. **Estatística descritiva-outliers, boxplot e padronização**. Publicado em 17 de ago de 2013. Disponível em: <www.statmeup.com.br>. Acesso em: 29 jan. 2016.

SUCAR, D. D.; SOUGEY, E. B.; NETO, J. B. Surto psicótico pela possível interação medicamentosa de sibutramina com finasterida. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 24 (1), p. 30-33, 2002.

SUEOKA, N.; SUGANUMA, M. SUEOKA,E; OKABE, S.; MATSUYAMA, S.; IMAI, K. A New function of green tea: prevention of lifestyle-related diseases. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 6, p. 928:341, 2001.

TANAKA T;MATSUO Y; KOUNO. Chemistry of Secondary Polyphenols Produced during Processing of Tea and Selected Foods. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11(1), p. 14-40, 2010.

TEXEIRA, S. S.; ZANCANARO, V.; SANTOS, P. Eficácia da utilização crônica de infusão de chá verde (*Camellia sinensis*) na redução do colesterol total, colesterol – LDL plasmático e índice de massa corporal em pacientes com hipercolesterolemia. **Ágora Revista de divulgação científica**, v. 16 (2), 2009.

TZIOMALOS, K.;KRESSAS G. E.;TZOTZAS, T. The use of sibutramine in the management of obesity and related disorders: An update. **Vascular Health and Risk Management**, v. 5, p. 441-442, 2009.

VINSON, J.A.; DABBAGH, Y.A. Effect of green and black tea supplementation on lipids, lipid oxidation and fibrinogen the hamster: mechanisms for the epidemiological benefits of tea drinking. **FEBS Letters**, v. 433, p. 44-46, 1998.

WANG, S.;MOUSSA, M. N.; CHEN L.; SHASTRI, A.; SU, R; BAPAT ,P.:KWUN, I. S.; SHEN, C. L. Novos Conhecimentos de Polifenóis na Dieta e Obesidade. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v 25, p. 1-18, 2013.

WEISBURGER, J.H. Tea and healht: the undertying mechanisms. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 5, p. 220-271, 1999.

XIAO, X. Q.; WILLIAMS, S. M.; GRAYSON, B. E.; GLAVAS, M. M.; COWLEY, M. A.; SMITH, M. S.; GROVE, K. L. Excess weight gain during the early postnatal period is associated with permanent reprogramming of brown adipose tissue adaptive thermogenesis. **Endocrinology**, v.148 (9), p. 4150- 4159, 2007.

ZHONG, L; FURNE, J. K.; LEVITT, M. D. An extract of black, green, and mulberry teas causes malabsorption of carbohydrate but not of triacylglycerol in healthy volunteers. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 84, p. 51–555, 2006.

ANEXO A – Parecer da comissão de Ética no uso de animais do Centro de Ciências Biológica da UFPE

ANEXO A- Parecer da Comissão de Ética



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 16 de dezembro de 2014.

Ofício nº 86/14

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof.ª Liriane Baratella Evencio**
Departamento de Histologia e Embriologia
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.053073/2014-20

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **"Estudo comparativo entre Sibutramina e Epigalocatequina-3-galato na perda de peso de ratos com o obesidade induzida."**

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos parecer favorável aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério; Animais: ratos; Linhagem: Wistar; Sexo: machos e fêmeas; Idade: lactantes e adultos; Peso: 25 e 250g; Número de animais previstos no protocolo: 41.

Atenciosamente,

Pedro V. Carelli

Prof. Dr. Pedro V. Carelli
Presidente da CEUA / CCB - UFPE
SIAPE 1801584

ANEXO B – Dieta Presence®, tabela nutricional, laboratório Purina.

ANEXO B- Dieta Presence®

Tabela Nutricional

	100g	100g	100g
Umidade % máx.	12.00	12.00	12.00
Proteína % mín.	23.00	22.00	15.00
Gordura % mín.	4.00	3.00	2.00
Fibra % máx.	5.00	13.00	18.00
Calcio % máx.	1.50	1.50	1.50
Fósforo % mín.	0.85	0.70	0.50
Cinzas % máx.	10.00	10.00	12.00
Energia met. kcal/kg	2750.00	2500.00	2200.00
Arginina %	1.50	1.50	1.10
Isoleucina %	1.00	1.00	0.70
Lisina %	1.40	1.40	0.90
Metionina %	0.40	0.40	0.30
Cistina + Metionina %	0.80	0.80	0.60
Isovalina %	0.90	0.90	0.60
Triptofano %	0.30	0.30	0.20
Vitamina A UI/kg	25000.00	25000.00	12000.00
Vitamina D3 UI/kg	4000.00	4000.00	1000.00
Vitamina E UI/kg	80.00	80.00	40.00
Menadiona ppm	6.40	6.40	1.50
Colina ppm	2800.00	1850.00	1300.00
Niacina ppm	220.00	220.00	20.00
Pantotênato de Cálcio ppm	90.00	90.00	20.00
Riboflavina ppm	12.00	12.00	3.50
Vitamina B12 ppb	40.00	40.00	10.00
Biotina ppm	0.20	0.20	0.10
Ácido Fólico ppm	13.00	13.00	3.50
Pinicóina ppm	11.00	11.00	1.50
Timina ppm	11.00	11.00	2.00
Magrésio g/kg	3.50	3.50	0.30
Potássio g/kg	9.00	10.00	-
Sódio g/kg	2.00	2.50	2.00
Ferro ppm	180.00	180.00	120.00
Cobalto ppm	2.00	2.00	1.20
Cobre ppm	30.00	30.00	24.00
Iodo ppm	1.00	1.00	2.40
Manganês ppm	110.00	110.00	96.00
Zinco ppm	110.00	110.00	120.00
Selenio ppm	0.20	0.20	0.22

Análises feitas sob condições de teste. Todos os níveis são baseados no material original.



Purina

Barro Manso, RJ 24 3348 2275. Canoas, RS 51 477 1177. Carmo
do Cajuru, MG 37 3244 1400. Inhumas, GO 62 511 1864. Paulínia,
SP 19 3884 9800. São Lourenço do Mato, PE 81 3525 7000.
Imperatriz, MA 99 525 4699. Vilhena, RO 69 322 3979.

www.purinobrasil.com.br

ANEXO C -- Dietas ocidentalizadas: crescimento e manutenção elaboradas pelo Departamento de Nutrição da UFPE (dieta modificada de CAVALCANTE et al., 2013)

ANEXO C- Dietas ocidentalizadas

PALATÁVEL CRESCIMENTO-N2	Qtd (g)		
		1kg	7kg
MAISENA		127,0	889,0
farinha rosca		50,0	350,0
FARINHA DE TRIGO		60,0	420,0
FARINHA DE ARROZ		40,0	280,0
BISCOITO MAISENA		0,0	0,0
FARINHA DE soja		50,0	350,0
CASEÍNA		190,0	1330,0
CELULOSE		30,0	210,0
GOMA		0,0	0,0
OLEO milho		20,0	140,0
oleo soja		30,0	210,0
BANHA (*Banha Sadia)		30,0	210,0
manteiga		30,0	210,0
MARGARINA (65% lip)		20,0	140,0
creme de leite itambé (20%lip)		30,0	210,0
AÇUCAR		180,0	1260,0
SAIS - MIX MINERAL		25,0	175,0
VITAMINAS		7,0	49,0
COLINA		2,5	17,5
METIONINA		3,0	21,0
BHT = 0,14mg		0,0	0,1
Glutamato Monossódico (12,3% de Na)		6,0	42,0
NaCl (39,34% de Na)		0,0	0,0
caldo de costela -1 cubo		9,6	67,2
batata frita sabor churrasco		60	420,0
Total	100,0	1000,1	7000,8

PALATÁVEL CRESCIMENTO-N-3			
	Qtd (g)		
		1kg	7kg
MAISENA	120,0	120,0	840
farinha rosca	350	50,0	350
FARINHA DE TRIGO	350	50,0	350
BISCOITO MAISENA	455	65,0	455
FARINHA DE soja	350	50,0	350
CASEÍNA	210,0	210,0	1470
CELULOSE	210	30,0	210
GOMA	0	0,0	0
OLEO milho	70	10,0	70
oleo soja	210	30,0	210
BANHA (*Banha Sadia)	350	50,0	350
manteiga	280	40,0	280
MARGARINA (65% lip)	224	32,0	224
creme de leite itambé (20%lip)	280	40,0	280
AÇUCAR	1260	180,0	1260
SAIS - MIX MINERAL	175	25,0	175
VITAMINAS	49	7,0	49
COLINA	17,5	2,5	17,5
METIONINA	21	3,0	21
BHT = 0,14mg	0,098	0,0	0,098
Glutamato Monossódico (12,3% de Na)	21	3,0	21
NaCl (39,34% de Na)	21	3,0	21
caldo de costela -1 cubo	0	0,0	0
batata frita sabor churrasco	0	0	0
Total	100,05	1000,5	7003,6

manutenção 1

PALATÁVEL	Qtd	Calorias	Proteínas (g)	Urdas (g)	Carboidratos (g)	Fibras (g)	Sódio (g)	Colisterol (mg)	AG Saturado (g)	AG Mono-insaturado (g)	AG Poli-insaturado (g)	g adição	kg
MAISENA	16,3	58,8	0,1	0,0	14,2	0,1	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	163
farinha rosca	0,0	21,7	0,7	0,1	4,5	0,3	0,02	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	80
FARINHA DE TRIGO	10,2	37,1	1,0	0,1	7,5	0,2	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100
BISCOITO MAISENA	0,0	21,6	0,3	0,7	4,5	0,1	0,02	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	60
FARINHA DE SOJA	3,3	22,2	1,8	0,7	1,9	1,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	50
CASENA	52,0	52,5	11,1	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	130
CELULOSE	2,0	6,8	0,0	0,0	0,0	2,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	20
GOMA	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10
OLIO milho	2,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	20
óleo soja	2,0	17,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	20
BANHA (**Barba Sada)	4,0	35,4	0,0	4,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	20
manteiga	8,0	36,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,02	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	40
MARGARINA (65% IP)	1,0	21,8	0,0	2,0	0,0	0,0	0,03	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	30
creme de leite instantâneo (20% aip)	1,0	13,9	0,0	0,7	0,1	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	30
AÇÚCAR	10,0	38,8	0,0	0,0	17,9	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	180
SALS - MIX MINERAL	0,0	9,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,07	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	25
VITAMINAS	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7
COLINA	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5
METIONINA	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3
BHT - 0,14mg	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,014
Glutinato Microcristalino (17,3% de Na)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,07	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6
NaCl (99,3% de Na)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,12	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3
Total	100,0	388,8	15	15	51	4,8	0,6	19,8	4,6	4,0	4,2	12,78	999,514
VET		404,51	60,64	140,95	202,93				35,60	31,60	4,0	32,80	
% CONTRIBUIÇÃO VET MACRO		4,05	54,99	34,84	50,17								
ARREDONDAMENTO			15	35	50								

MANUTENÇÃO-2

PALATÁVEL manutenção	Qtd	Calorias	Proteína(g)	Lípidos (g)	Carboidratos (g)	Fibra (g)	Sódio (g)	Colésterol (mg)	AG Saturado (g)	AG Mono Insaturado (g)	AG Poli-Insaturado (g)	total ácidos
MAISENA	25,00 g	57,8	0,1	0,0	13,9	0,1	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
farinha rosca	3,00 g	18,1	0,6	0,1	3,8	0,2	0,02	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
FARINHA DE TRIGO	7,00 g	26,0	0,7	0,1	5,3	0,2	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
FARINHA DE ARROZ	8,00 g		0,1	0,0	5,1	0,0						
FARINHA DE soja	3,00 g	27,2	1,8	0,7	1,9	1,0	0,00	0,0	0,2	0,3	0,6	0,6
CASEINA	10,00 g	55,3	11,6	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CELULOSE	7,00 g	3,4	0,0	0,0	0,0	1,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
GOMA	1,00 g	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
OLEO milho	2,00 ml	8,8	0,0	2,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,3	0,7	1,0	1,0
óleo soja	1,00 g	8,8	0,0	1,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,2	0,2	0,6	0,6
BANTHA (*Banha Sadia)	3,00 g	26,3	0,0	3,0	0,0	0,0	0,00	7,3	0,5	0,6	0,3	0,3
manitega	4,00 g	36,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,02	8,0	2,0	0,8	0,0	0,0
MARGARINA (65% lp)	2,00 g	34,5	0,0	1,3	0,0	0,0	0,02	0,0	0,3	0,4	0,4	0,4
creme de leite flambé (20%lp)	3,00 g	17,9	0,0	0,7	0,1	0,0	0,00	2,0	0,4	0,2	0,0	0,0
AÇÚCAR	2,00 g	39,8	0,0	0,0	17,9	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
SAIS - MIX MINERAL	2,00 g	9,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,07	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
VITAMINAS	0,00 g	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
COLINA	0,00 g	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
METIONINA	0,00 g	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
BHT - 0,14mg	3,00 g	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Glicinato Monossódico (12,5% de Na)	0,00 g	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,07	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
óleo de crustela - 1 colher	0,00 g		0,0	0,0	0,0	0,0	0,21	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
batata em sabor churrasco			0,4	3,9	3,4	0,0	0,07	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Total	100,0		15	16	51	3,6	0,5	17,4	3,8	3,2	3,1	10,14
VET			61,54	144,86	205,75				37,71	31,47	30,82	
% CONTRIBUIÇÃO VET MACRO		4,12	14,93	36,15	49,92							
ARREDONDAMENTO			15	35	50	100						

obs: nesta, a farinha de trigo e arroz será substituída por ração comercial.

ANEXO D – Certificado de Análise da EGCG do Laboratório Aktin Chemicals.

ANEXO D- Certificado de Análise de EGCG



Nature Connecting Health

Aktin Chemicals, Inc.

No.52, Yongfeng Road, Hi-tech Zone, Chengdu
610041, P.R.China

Phone:86-28-85159085 Fax:86-28-85152372

website: www.aktinchem.com Email: info@aktinchem.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

(-)-Epigallocatechin gallate (EGCG)

Description:	(-)-Epigallocatechin gallate (EGCG)98% min by HPLC		
CAS:	989-51-5	MPW	458.37
MF	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	Part Used	Leaves
Botanical source	Green tea	Manufacture Date:	Feb.23, 2014
Batch:	EGCG-140223	Quantity:	189kg

ITEMS	SPECIFICATION	RESULTS	METHODS
Appearance	White powder	Conform	Visual
Identification	Positive	Positive	TLC
EGCG	>98%	99.23%	HPLC
Loss on Drying	≤5%	0.86%	2H 105℃
Ashes	≤0.2%	Conform	2H 525℃
Heavy Metals	≤10ppm	Conform	Visual Colorimetry
-Arsenic	≤1ppm	Conform	AAS
-Mercury	≤0.1ppm	Conform	AAS
-Cadmium	≤3ppm	Conform	AAS
-Lead	≤1ppm	Conform	AAS
Total Plate Count	<1000/g	Conform	AOAC966.23
Yeast& Mold	<100/g	Conform	FDABAM8th
E.Coli	Negative	Conform	FDABAM8th
Salmonella	Negative	Conform	FDABAM8th
Coliforms	≤10cfu/g	Conform	AOAC911.14

Storage: store in cool & dry place, keep away from strong light and heat

Stability: 24 months when properly stored

Packing: 1kg/bag

Quality Control Manager: Ashily Zhou Quality Assurance Manager: Will Zhang

ANEXO E – Ficha de informações de segurança de produtos químicos- *Sigma-Aldrich*
Data da revisão: 22.02.2011.

ANEXO E- Ficha de dados de segurança da EGCG

SIGMA-ALDRICH sigma-aldrich.com
FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTOS QUÍMICOS

Versão 5.0 Data de revisão 22.02.2011
Data de impressão 18.02.2015

1. IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO E DA EMPRESA

1.1 Identificadores do produto
Nome do produto : **GALATO DE EPILOCATEQUINA**

Referência do Produto : 50299
Marca : Fluka

1.2 Outros meios de identificação
EGCG
(-)-cis-3,3',4',5,5',7-Hexahydroxy-flavane-3-gallate
(-)-cis-2-(3,4,5-Trihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-1(2H)-benzopyran-3,5,7-triol 3-gallate

1.3 Utilizações identificadas relevantes da substância ou mistura e utilizações desaconselhadas
Só para utilização R&D. Não para utilização farmacêutica, doméstica ou outras utilizações.

1.4 Identificação do fornecedor da ficha de dados de segurança
Companhia : Sigma-Aldrich Brasil Ltda.
Av. das Nações Unidas, 23.043
04795-100 SÃO PAULO - SP
BRAZIL

Telefone : +55 11 3732 3100
Número de Fax : +55 11 5522 9895
Email endereço : sigmabr@sial.com

1.5 Número de telefone de emergência
(11) 99687-9933

2. IDENTIFICAÇÃO DE PERIGOS

2.1 Classificação GHS
Toxicidade aguda, Oral (Categoria 5)

2.2 Elementos da Etiqueta GHS, incluindo declarações de prevenção
Pictograma : nenhum(a)
Palavra de advertência : Atenção
Frases de Perigo : H303 : Pode ser perigoso por ingestão.
Frases de Precaução :
Resposta : P312 : Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

2.3 Outros Perigos - nenhum(a)

3. COMPOSIÇÃO E INFORMAÇÕES SOBRE OS INGREDIENTES

3.1 Substâncias
Sinónimos : EGCG
(-)-cis-3,3',4',5,5',7-Hexahydroxy-flavane-3-gallate

Fluka - 50299 GALATO DE EPILOCATEQUINA Página 1 de 6

(-)-cis-2-(3,4,5-Trihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-1(2H)-benzopyran-3,5,7-triol 3-gallate

Formula : $C_{22}H_{18}O_{11}$
Peso molecular : 458.37 g/mol

Componente	Concentração
(-)-Epigallocatechin gallate	
No. CAS	989-51-5

4. MEDIDAS DE PRIMEIROS-SOCORROS

4.1 Descrição das medidas de primeiros socorros

Recomendação geral

Consultar um médico. Mostrar esta ficha de segurança ao médico de serviço.

Se for inalado

Se for respirado, levar a pessoa para o ar fresco. Se não respirar, dar respiração artificial. Consultar um médico.

No caso dum contacto com a pele

Lavar com sabão e muita água. Consultar um médico.

No caso dum contacto com os olhos

Lavar os olhos com água como precaução.

Se for engolido

Nunca dar nada pela boca a uma pessoa inconsciente. Enxaguar a boca com água. Consultar um médico.

4.2 Sintomas e efeitos mais importantes, tanto agudos como retardados

Até onde sabemos, as propriedades químicas, físicas e toxicológicas não foram minuciosamente investigadas.

4.3 Indicações sobre cuidados médicos urgentes e tratamentos especiais necessários dados não disponíveis

5. MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO

5.1 Meios de extinção

Meios adequados de extinção

Utilizar água pulverizada, espuma resistente ao álcool, produto químico seco ou dióxido de carbono.

5.2 Perigos especiais decorrentes da substância ou mistura

Óxidos de carbono

5.3 Recomendações para o pessoal de combate a incêndios

Usar equipamento de respiração autónomo para combate a incêndios, se necessário.

5.4 Outras informações

dados não disponíveis

6. MEDIDAS DE CONTROLE PARA DERRAMAMENTO OU VAZAMENTO

6.1 Precauções individuais, equipamento de protecção e procedimentos de emergência

Usar equipamento de protecção individual. Evitar a formação de poeira. Evitar a respiração do vapor/névoa/gas. Evitar de respirar o pó.

6.2 Precauções a nível ambiental

Não permitir a entrada do produto no sistema de esgotos.

6.3 Métodos e materiais de confinamento e limpeza

Apanhar os resíduos sem levantar poeiras. Varrer e apanhar com uma pá. Manter em recipientes fechados adequados, para eliminação.

- 6.4 Remissão para outras secções
Para eliminação de resíduos ver secção 13.

7. MANUSEIO E ARMAZENAMENTO

- 7.1 Precauções para um manuseamento seguro
Evitar a formação de pó e aerossóis.
Providenciar uma adequada ventilação em locais onde se formem poeiras. Medidas usuais de protecção preventiva contra incêndio.
- 7.2 Condições de armazenagem segura, incluindo eventuais incompatibilidades
Armazenar em local fresco. Guardar o recipiente hermeticamente fechado em lugar seco e bem ventilado.
Temperatura recomendada de armazenagem: 2 - 8 °C
Estocar sob gás inerte. Sensível ao ar. Sensível à luz.
- 7.3 Utilizações finais específicas
dados não disponíveis

8. CONTROLE DE EXPOSIÇÃO E PROTEÇÃO INDIVIDUAL

8.1 Parâmetros de controlo

Limites de exposição ocupacional
Nós não temos conhecimento de nenhuma limite de exposição nacional.

8.2 Controlo da exposição

Controlos técnicos adequados
Manusear de acordo com as boas práticas industriais de higiene e segurança. Lavar as mãos antes de interrupções, e no final do dia de trabalho.

Protecção individual

Protecção ocular/ facial

Use equipamento de protecção ocular testado e aprovado de acordo com as normas governamentais adequadas, tais como NIOSH (US) ou EN 166 (EU).

Protecção da pele

Manusear com luvas. As luvas devem ser inspectadas antes da utilização. Use uma técnica adequada para a remoção das luvas (sem tocar a superfície exterior da luva) para evitar o contacto da pele com o produto. Descarte as luvas contaminadas após o uso, em conformidade com as leis e boas práticas de laboratório. Lavar e secar as mãos.

As luvas de protecção seleccionadas devem satisfazer as especificações da Directiva da UE 89/689/CEE e a norma EN 374 derivada dela.

Protecção do corpo

Escolher uma protecção para o corpo em relação com o tipo, a concentração e a quantidade da substância perigosa, e com o lugar de trabalho específico. O género de equipamento de protecção deve ser escolhido de acordo com a concentração e a quantidade da substância perigosa no lugar de trabalho.

Protecção respiratória

Não é necessária protecção respiratória. Se desejar protecção contra níveis de pó incomodativos, use máscaras de pó do tipo N95 (E.U.A.) ou do tipo P1 (EN 143). Use respiradores e componentes testados e aprovados por normas governamentais apropriadas, tais como as NIOSH (E.U.A.) ou CEN (UE).

9. PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS

9.1 Informações sobre propriedades físicas e químicas de base

- | | |
|------------|-----------------------|
| a) Aspecto | Estado físico: sólido |
| b) Odor | dados não disponíveis |

c) Limite de Odor	dados não disponíveis
d) pH	dados não disponíveis
e) Ponto de fusão/ponto de congelamento	dados não disponíveis
f) Ponto de ebulição inicial e intervalo de ebulição	dados não disponíveis
g) Ponto de fulgor	dados não disponíveis
h) Taxa de evaporação	dados não disponíveis
i) Inflamabilidade (sólido, gás)	dados não disponíveis
j) Limites de inflamabilidade superior / inferior ou explosividade	dados não disponíveis
k) Pressão de vapor	dados não disponíveis
l) Densidade de vapor	dados não disponíveis
m) Densidade relativa	dados não disponíveis
n) Hidrossolubilidade	dados não disponíveis
o) Coeficiente de partição n-octanol/água	dados não disponíveis
p) Temperatura de auto-ignição	dados não disponíveis
q) Temperatura de decomposição	dados não disponíveis
r) Viscosidade	dados não disponíveis

10. ESTABILIDADE E REATIVIDADE

- 10.1 **Reatividade**
dados não disponíveis
- 10.2 **Estabilidade química**
dados não disponíveis
- 10.3 **Possibilidade de reacções perigosas**
dados não disponíveis
- 10.4 **Condições a evitar**
dados não disponíveis
- 10.5 **Materiais incompatíveis**
Agentes oxidantes fortes
- 10.6 **Produtos de decomposição perigosos**
Outros produtos de decomposição perigosos - dados não disponíveis

11. INFORMAÇÕES TOXICOLÓGICAS

11.1 Informações sobre os efeitos toxicológicos

Toxicidade aguda

DL50 Oral - rato - 2.170 mg/kg - 0

Corrosão/irritação cutânea

dados não disponíveis

Lesões oculares graves/irritação ocular
dados não disponíveis

Sensibilização respiratória ou cutânea
dados não disponíveis

Mutagenicidade em células germinativas
dados não disponíveis

Carcinogenicidade

IARC: Nenhum componente deste produto presente a níveis maiores ou iguais a 0.1% é identificado como carcinógeno provável, possível ou confirmado pelo IARC.

Toxicidade à reprodução e lactação
dados não disponíveis

Toxicidade sistêmica para órgãos-alvo específicos - exposição única
dados não disponíveis

Toxicidade sistêmica para órgãos-alvo específicos - exposição repetida
dados não disponíveis

Perigo de aspiração
dados não disponíveis

Efeitos potenciais para a saúde

Inalação	Pode ser perigoso se for inalação. Pode causar uma irritação do aparelho respiratório.
Ingestão	Pode ser perigoso se for engolido.
Pele	Pode ser perigoso se for absorvido pela pele. Pode causar uma irritação da pele.
Olhos	Pode causar uma irritação dos olhos.

Sinais e sintomas de exposição

Até onde sabemos, as propriedades químicas, físicas e toxicológicas não foram minuciosamente investigadas.

Informação adicional
RTECS: KB5200000

12. INFORMAÇÕES ECOLÓGICAS

12.1 Ecotoxicidade
dados não disponíveis

12.2 Persistência e degradabilidade
dados não disponíveis

12.3 Potencial biocumulativo
dados não disponíveis

12.4 Mobilidade no solo
dados não disponíveis

12.5 Resultados da avaliação PBT e mPmB
dados não disponíveis

12.6 Outros efeitos adversos
dados não disponíveis

13. CONSIDERAÇÕES SOBRE TRATAMENTO E DISPOSIÇÃO

13.1 Métodos de tratamento de resíduos

Produto

Propor a entrega de soluções excedentes e não recicláveis a uma empresa idônea de tratamento de resíduos. Entrar em contato com um serviço profissional credenciado de descarte de lixo para descartar

esse material. Dissolver ou misturar o material com um solvente combustível e queimar em incinerador químico equipado com pós-combustor e purificador de gases.

Embalagens contaminadas

Eliminar como produto Não utilizado.

14. INFORMAÇÕES SOBRE TRANSPORTE

14.1 Número ONU

ADR/RID: - DOT (US): - IMDG: - IATA: -

14.2 Designação oficial de transporte da ONU

ADR/RID: Mercadorias não perigosas

DOT (US): Mercadorias não perigosas

IMDG: Mercadorias não perigosas

IATA: Mercadorias não perigosas

14.3 Classes de perigo para efeitos de transporte

ADR/RID: - DOT (US): - IMDG: - IATA: -

14.4 Grupo de embalagem

ADR/RID: - DOT (US): - IMDG: - IATA: -

14.5 Perigos para o ambiente

ADR/RID: não DOT (US): não IMDG Poluente marinho: não IATA: não

14.6 Precauções especiais para o utilizador

dados não disponíveis

15. REGULAMENTAÇÕES

15.1 Regulamentação/legislação específica para a substância ou mistura em matéria de saúde, segurança e ambiente

Esta Ficha de Informações de Produtos Químicos foi preparada de acordo com a NBR 14725-4/2009 da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas)

16. OUTRAS INFORMAÇÕES

Outras informações

Direitos exclusivos, 2011, da Sigma-Aldrich. Permissão concedida para fazer número ilimitado de cópias em papel, somente para uso interno.

Acredita-se que as informações acima estejam corretas, embora não pretendam ser totalmente abrangentes, devendo ser usadas apenas como um guia. A Sigma-Aldrich não deverá ter responsabilidade legal por quaisquer danos resultantes do manuseio ou do contato com o produto acima. Consultar o verso da fatura ou nota que acompanha o produto para tomar conhecimento dos termos adicionais e condições de venda.

ANEXO F – Aparelho analisador dosagens bioquímicas- AU680 *Chemistry Analyzer- Beckman Coulter (site).*

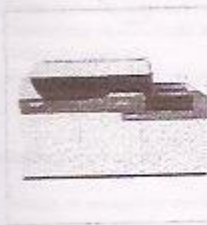
ANEXO F- Aparelho de dosagens bioquímicas-AU680

13/12/2015
AU680, AU680 Chemistry Analyzer, AU680 Sistema de Química - Beckman Coulter, Inc.

Para os clientes dos Estados Unidos, a fim precoce, Beckman Coulter será fechada quinta-feira 24 de dezembro e sexta-feira, 25 de dezembro, 2015 nos Estados Unidos, e sexta-feira 01 de janeiro de 2016. Para evitar possíveis atrasos nos embarques de produtos ou prestação, recomendamos que você colocar os seus pedidos por sexta-feira, 19 de dezembro, 2015.

AU680

O mais novo membro da alta performance série analisador de laboratório Beckman Coulter é o Sistema de Química AU680. Com base em profunda consulta do cliente, o Sistema de Química AU680 se destina a ajudar os laboratórios de médio a alto rendimento atender cada vez mais as pressões sobre tempo e produtividade.



Visão geral

Para obter informações adicionais, visite o nosso [Virtual Centro de Visão](#)

Os benefícios do Sistema de Química AU680 pode ser dividido em três categorias principais - melhor conveniência do usuário, incluindo opções de automação; alargado alcance analítico e custos operacionais reduzidos. Em relação à conveniência, o Sistema de Química AU680 é operado através de uma nova e altamente intuitiva interface gráfica do usuário, incluindo vídeos embudidos para apoiar pessoas fundamentais de manutenção. A flexibilidade é garantida com uma capacidade de menu de até 63 ensaios diferentes a bordo. Uma nova pista especial prioridade executa reprises rapidamente. Para aumentar os níveis de automação, os amostras podem ser carregados através de uma nova bandeja de rack padronizada para transferência directa a partir da Beckman Coulter Automate workstation 2500 peri-analítica. Distribuição do reagente Triplo permite que o Sistema de Química AU680 para realizar ensaios de exigir até três reagentes separados. Isso melhora o desempenho analítico e abre novas possibilidades para os ensaios atuais e futuros. No geral, os custos operacionais são reduzidos, eliminando a necessidade de múltiplas calibrações através de "Plug and Play" calibração usando códigos de barras 2D. Por fim, o Sistema de Química AU680 oferece uma velocidade de até 1.200 testes por hora e uma capacidade on-board de até 63 diferentes testes realizados em paralelo. Lucro de características inovadoras e benefícios claros para o seu laboratório.

Ferramentas

Ordem rápida

Relatório do pedido / Rastreamento

Recursos

Treinamento e Educação

Diagnóstico Falhas e Eventos

Conexão da Especialista

Assinaturas de e-mail

Virtual Centro de Visão

Diagnóstico Boletim informativo

Diagnóstico folheto corporativo

Menu Teste

AU Systems

UniCell DxG

Sistemas Integrados

Reagente Prep Guia Breve

Software

➤ PRODUCT FEATURES

Melhoria da conveniência

- Nova e intuitiva interface gráfica do usuário
- Excelente visão geral e orientação software precisa
- Manutenção de vídeo incorporado

Novos horizontes analíticos

- Manipulação de reagentes 3-shot

Plug and play de calibração via código de barras 2D




3/12/2015

AU680, AU680 Chemistry Analyzer, AU680 Sistema de Química - Beckman Coulter, Inc.

Alimentador de Amostra

- Identificação da amostra positiva para eliminar qualquer mistura amostra ups
- Beckman Coulter prateleiras flexíveis para lidar com todos os tamanhos de tubos comumente usados em paralelo
- Rack de código de barras para definir diferentes materiais de amostra ou outros detalhes de exemplo
- 150 amostras a bordo em qualquer momento por muito tempo a pé
- Reflexo testes
- Re-executar prioridade pista



Compartimentos de reagentes refrigerados

- Consolidação estação de trabalho real com até 60 analitos diferentes em paralelo
- Pronto para usar reagentes líquidos estáveis
- Capacidades de comutação automática de garrafas
- Calibração avançada
- Detecção de líquidos e cálculo número de teste restante



Estação de lavagem

- Estação de lavagem de alta tecnologia para garantir um diagnóstico válidos
- Dois detergentes diferentes para evitar qualquer contaminação com
- Quatro vezes lavagem com água seguida por um passo de secagem separada para obter um desempenho ótimo do sistema



Mixer

- Alta precisão estação de mistura para garantir excelentes condições de reação
- Padronizado mistura procedimentos em toda a gama de analisadores
- Posições diferentes do mixer para as etapas de reação individuais



Cuvetes roda

- Cuvetes de quartzo não descartáveis
- Software impulsionado carry sobre eliminação
- Volume de reação total tão pequeno como 120 µl
- Amiga do ambiente



Unidade ISE

- ISE de alta qualidade para Na, K e Cl
- 6 meses de vida útil
- 18 meses de vida útil para eletrodos de referência
- 600 testes / hora (se o modo ISE apenas)
- Mesma tecnologia em toda a gama de analisadores



Sonda de amostra

- O volume tão pequeno quanto 1,6 µl Amostra
- Detecção de coágulos
- Prevenção Bater



13/12/2015

AU680, AU680 Chemistry Analyzer, AU680 Sistema de Química - Beckman Coulter, Inc.

- Frequência de amostragem de 4,5 segundos



STAT amostra rotor

- Rotor STAT dedicado com 22 posições e leitor de código de barras integrado
- Capacidades STAT cheio durante a operação de rotina
- Área refrigerada para calibradores e controles
- Rotina e área de trabalho de emergência



Sondas de reagente

- Tact frequência 4,5 segundos
- Reagente de volume tão pequeno quanto 15 µl
- Detecção de líquidos
- Cálculo dos restantes testes / frasco



Especificações

Sistema analítico	Sistema de química totalmente automatizado, de acesso aleatório com capacidade STAT
Princípio analítico	Espectrofotometria e potenciometria
Tipos de análise	Endpoint, taxa, ponto fixo e ISE indireta
Métodos analíticos	Colorimetria, turbidimetria, aglutinação em látex, EIA homogênea, ISE indireta
Análitos simultaneamente processados	60 ensaios fotométricos + 3 ISE
Taxa de transferência	800 testes fotométricos / hora; até 1200 com ISE
Tipos de amostras	O soro, urina, sangue total (HbA1c), outros 1, 2 outra
Alimentador de Amostra	Rack com 10 amostras cada um (códigos de barras em tubos primários e em proteleiras); capacidade de 150 amostras; carregamento contínuo
Tubos de amostras	Em tubos primários e secundários; diâmetro entre 11,5 e 16,5 mm; altura entre 55 e 102 mm
Amostras STAT	Até 22 posições para amostras STAT, tubos primários com código de barras
Volume da amostra	Incrementos de 1-25 µl, em 0,1 µl (1-25 µl) de repetições
Fornecimento de reagente	60 posições para R1, 48 posições para R2; (refrigerado a 4-12 ° C); manipulação de reagentes 3-shot
Volume de reagente	R1: 15-250 µL; R2: 15-250 µL; (em incrementos de 1 µL)
Volume total de reação	120-425 mL
Cuvete de reação	Cuvetes de quartzo
Tempo de reação	Até 6 minutos, 40 segundos
A temperatura de reação	37 ° C
Método de Mistura	Com pás rotativo após a distribuição de amostra e de reagente
Sistema de fotometria	Ensaio directo através do cadinho de reacção (D-3,0 OD) mono e medições biométricas possível

13/12/2015	AU680, AU680 Chemistry Analyzer, AU680 Sistema de Química - Beckman Coulter, Inc.
Comprimento de onda	13 diferentes comprimentos de onda entre 340 - 800 nm
Limpeza Cuvette	Limpeza completa com detergentes
Calibração	Autocalibração, emite ou posições calibrador; calibração mestre estabelecido pelo código bidimensional bar do frasco de reagente (> calibração de 3 pontos)
Controle de qualidade	Auto QC, emite ou posições QC
Requisição de teste	Requisição de teste de perfil individual e via on line, rato, funções chaves ou tela sensível ao toque
Segurança	Prevenção e detecção de colisão Ciot para a amostra e reagente dispenser
Conectados	Uni- completa e comunicação bidirecional possível
Programas	O Windows XP®
Armazenamento de dados	Amostra número 100.000 amostras. Reação de Dados 200.000 testes
Dimensões (W x H x D) mm	ANL 1850 x 1280 x 1000
Fonte de energia	200 V; 208 V; 220 V; 230 V; 240 V; 50 Hz; 60 Hz / 3,8 KVA

As especificações e design estão sujeitos a alterações sem aviso prévio.

https://www.beckmancoulter.com/wwsportal/wwsportal.portal?_nfpb=true&_windowLabel=UCM_RENDERER&_urlType=render&wipUCM_RENDERER... 4/4

ANEXO G – Exames bioquímicos dos animais realizados no Hospital das Clínicas da UFPE.
Unidade de Laboratório-UFPE-ULAB/HC.

ANEXO G- Tabela de exames bioquímicos dos ratos de estudo



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFPE
FILIAL DA EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS
HOSPITALARES



UNIDADE DE LABORATÓRIO – ULAB/HC

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL	DATA	GLU	URE	CREA	AU	TGO/AST	TGP/ALT
G1C1	10/11/2015	178	35.1	0.4	1.5	100.4	54.5
G1C2	10/11/2015	125	39.1	0.3	1.1	177.1	40.8
G2C1	10/11/2015	199	31.5	0.2	1	148.7	52.6
G2C2	10/11/2015	185	36.4	0.3	3	136.2	50
G3C1	10/11/2015	171	34.9	0.2	1.4	171.2	62.7
G3C2	10/11/2015	169	33.1	0.2	2.2	169.3	56.3
G4C1	10/11/2015	139	24.8	0.2	1.6	161.3	41
G4C2	10/11/2015	196	32.1	0.3	2.1	278.7	55.8

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL	DATA	GLU	URE	CREA	AU	TGO/AST	TGP/ALT
G5C1	10/11/2015	158	34.5	0.2	1.1	165.3	43.6
G5C2	10/11/2015	154	46.1	0.3	1.8	141.7	42.3
G6C1	10/11/2015	185	38.2	0.2	1.5	113.8	51.7
G7C1	10/11/2015	124	30	0.2	1.5	154.8	43.5
G7C2	10/11/2015	143	32.8	0.3	1.2	158	40.9
G8C1	10/11/2015	173	34.7	0.2	1.4	95.5	41.8
G8C2	10/11/2015	226	44.4	0.2	2.2	167	40

Dra. Maria Leonilda G. Silva
Farmacêutica Bióloga
CRF 01723 O
ULAB/HC - UFPE



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFPE
FILIAL DA EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS
HOSPITALARES



UNIDADE DE LABORATÓRIO – ULAB/HC

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL	DATA	GGT(-)	FA/ALP	TRI	COL T	COL HDL	COL LDL	COL VLDL
G1C1	10/11/2015	1.6	249.8	46.3	41	32.2	0	9
G1C2	10/11/2015	1.3	191	37.4	38.7	29.3	2	7
G2C1	10/11/2015	2	170.2	64.6	62.7	44.8	5	13
G2C2	10/11/2015	1.9	181.4	47.5	50.9	37	4	10
G3C1	10/11/2015	2.3	258.5	23.5	56.9	38.5	14	5
G3C2	10/11/2015	1	126.3	29.1	91	47.8	37	6
G4C1	10/11/2015	1.7	139	29.9	68.9	34	29	6
G4C2	10/11/2015	2	127.9	16.9	58.9	36.3	19	3

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL	DATA	GGT	FA/ALP	TRI	COL T	COL HDL	COL LDL	COL VLDL
G5C1	10/11/2015	1.8	154.9	31.1	59.6	36.5	17	6
G5C2	10/11/2015	2.6	126.5	35.3	53.5	39.5	7	7
G6C1	10/11/2015	3	224.3	31	54.9	37.3	11	6
G7C1	10/11/2015	2.6	193.8	27.5	58.3	33.5	19	6
G7C2	10/11/2015	0.3	223.8	48.5	70.5	26.8	34	10
G8C1	10/11/2015	2.1	122.8	27.9	70.5	43.5	21	6
G8C2	10/11/2015	1.8	106.2	35	74.3	38.2	29	7

Dra Maria Leonilda G. Silva
Farmacêutica Responsável
CRF 01703
ULAB - HC - UFPE



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFPE
FILIAL DA EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS
HOSPITALARES

EBSERH
EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS HOSPITALARES

UNIDADE DE LABORATÓRIO – ULAB/HC

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL	DATA	GLU	URE	CREA	AU	TGO/AST	TGP/ALT
G9C1	19/11/2015	161	32.7	0.3	1.9	155.2	44.8
G9C2	19/11/2015	151	28.1	0.3	1.4	222.9	46.3
G10C1	19/11/2015	134	32.8	0.3	1.3	148.8	46
G10C2	19/11/2015	223	31	0.3	1.6	177.9	42.5
G11C1	19/11/2015	190	39.3	0.2	0.7	165.9	36
G12C1	19/11/2015	197	42.6	0.5	2.2	123.4	55.3
G12C2	19/11/2015	142	33.3	0.4	1	351.3	41.8

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL	DATA	GLU	URE	CREA	AU	TGO/AST	TGP/ALT
G13C1	19/11/2015	160	23.1	0.3	2	210.2	30.9
G13C2	19/11/2015	136	33.2	0.3	1.3	266.5	62.2

Dra Maria Leonilda G Silva
Farmacêutica Bioprima
CRF 01703
ULAB - HC - UFPE



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFPE
FILIAL DA EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS
HOSPITALARES

EBSERH
HOSPITALS UNIVERSITÁRIOS EMBRASERH

UNIDADE DE LABORATÓRIO - ULAB/HC

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL	DATA	GGT	FA/ALP	TRI	COL T	COL HDL	COL LDL	COL VLDL
G9C1	19/11/2015	1.3	349.3	41.1	65.6	39.2	18	8
G9C2	19/11/2015	1.4	134.7	39.7	37.3	16.1	13	8
G10C1	19/11/2015	0.8	117.4	35	39.8	29.5	3	7
G10C2	19/11/2015	2.6	76.7	54.5	63.6	35.6	17	11
G11C1	19/11/2015	1.7	178.2	38	57.7	40.2	10	8
G12C1	19/11/2015	0.5	117	34.8	42.1	25.3	10	7
G12C2	19/11/2015	2.3	105.2	30.1	46.8	26.6	14	6

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL	DATA	GGT	FA/ALP	TRI	COL T	COL HDL	COL LDL	COL VLDL
G13C1	19/11/2015	2.1	165.8	81.7	47.5	28.7	2	16
G13C2	19/11/2015	0.4	125.5	103.7	60.2	38.9	1	21

Dra Maria Leonilda G Silva
Farmacêutica Bioclinica
CRF 01708
ULAB - HC - UFPE



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFPE
FILIAL DA EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS
HOSPITALARES

EBSERH
EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS HOSPITALARES

UNIDADE DE LABORATÓRIO - ULAB/HC

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL	DATA	GLU	URE	CREA	AU	TGO/AST	TGP/ALT
G14C1	27/11/2015	175	35.1	0.4	1.5	160.4	40
G14C2	27/11/2015	200	27.5	0.3	1.2	134.4	28.4
G15C1	27/11/2015	144	31.4	0.3	1.5	171.1	63
G15C2	27/11/2015	174	23.6	0.3	1.6	141.8	49
G16C1	27/11/2015	140	37.4	0.3	1.2	265.4	49.4
G16C2	27/11/2015	136	38.1	0.3	1.5	192.3	47.3
G17C1	27/11/2015	136	44.9	0.3	0.9	120.4	52.2
G17C2	27/11/2015	129	51.2	0.2	0.7	113.5	48.5
G18C1	27/11/2015	130	42.9	0.3	0.8	125.5	46.9
G18C2	27/11/2015	186	44.9	0.2	0.8	86.8	40.9
G19C1	27/11/2015	142	44.4	0.3	1.2	111.2	40.6
G19C2	27/11/2015	135	46.7	0.2	0.9	169.9	56.5
G20C1	27/11/2015	214	42.3	0.2	1	95	45.9
G20C2	27/11/2015	251	44.8	0.3	0.8	143.8	70.2
EXT1C1	27/11/2015	125	30.4	0.3	1.2	102.4	29.5
EXT1C2	27/11/2015	170	25.8	0.3	1	92.3	33.6

Dra. Maria Leonilda G. Silva
Farmacêutica Bióloga
CRF 01703
ULAB - HC - UFPE



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFPE
FILIAL DA EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS
HOSPITALARES

EBSERH
EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS HOSPITALARES

UNIDADE DE LABORATÓRIO - ULAB/HC

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL	DATA	GGT	FA/ALP	TRI	COL T	COL HDL	COL LDL	COL VLDL
G14C1	27/11/2015	0.7	120.7	48.3	74.8	51.3	14	10
G14C2	27/11/2015	0.8	125.2	70.6	39.5	28.1	0.3	14
G15C1	27/11/2015	0.4	189.8	115.8	53.8	32.4	2	23
G15C2	27/11/2015	0.2	215.9	55.5	46.5	32.6	3	11
G16C1	27/11/2015	0	186.7	107.3	87.9	54.3	12	21
G16C2	27/11/2015	2.6	224.7	63.9	59.9	29	18	13
G17C1	27/11/2015	0.8	147	33.6	57.5	44.1	7	7
G17C2	27/11/2015	0.8	166.5	34.3	51.4	40.4	4	7
G18C1	27/11/2015	0.5	173.8	47.5	63.8	46.7	0.8	10
G18C2	27/11/2015	0.2	179.6	33.7	47.2	35.4	5	7
G19C1	27/11/2015	0	140.2	32.9	51	40	4	7
G19C2	27/11/2015	0.8	231.2	27.7	44.1	29.2	9	6
G20C1	27/11/2015	0.4	128.8	38.2	67	49.6	10	8
G20C2	27/11/2015	1.1	286.2	44.3	45.1	32.5	4	9
EXT1C1	27/11/2015	0.5	96.6	35	55	40.5	8	7
EXT1C2	27/11/2015	0.8	115.5	23.1	51.8	40	8	5

Dra. Maria Leonilda G. Silva
Farmacêutica Bioprocesso
CRF 01703
ULAB - HC - UFPE

ANEXO H – Tabela. Parâmetros bioquímicos de ratos Wistar de ambos os gêneros. Valores expressos em média e desvio padrão por faixa de valores. Aracaju/SE. (LIMA et al.,2014).

ANEXO H- Tabela de parâmetros bioquímicos de ratos Wistar

C. M. Lima et al., Scientia Plena 10, 034601 (2014)

4

Tabela 1. Parâmetros bioquímicos de ratos Wistar de ambos os gêneros. Valores expressos em média $\pm$ S.D. e por faixa de valores (mínimo e máximo). (n) – número de animais.

Parâmetros (Unid.)	Média $\pm$ S.D. (n) Machos	Faixa Machos	Média $\pm$ S.D. (n) Fêmeas	Faixa Fêmeas
FA / ALP (U/L)	91,63 $\pm$ 28,70 (29)	56 – 153	75,95 $\pm$ 19,07 (22)	51 – 116
TGP / ALT (U/L)	57,55 $\pm$ 11,95 (33)	38 – 82	45,47 $\pm$ 9,23 (34)	32 – 63
TGO / AST (U/L)	131,33 $\pm$ 43,98 (33)	61 – 210	107,87 $\pm$ 53,96 (30)	51 – 211
Coolesterol (mg/dL)	60,68 $\pm$ 6,51 (22)	45 – 76	64,86 $\pm$ 11,17 (22)	54 – 96
Proteína Total (g/dL)	5,75 $\pm$ 0,87 (37)	4,0 – 6,9	6,07 $\pm$ 0,83 (35)	5,0 – 7,7
Albumina (g/dL)	2,65 $\pm$ 0,30 (38)	2,0 – 3,5	2,41 $\pm$ 0,76 (36)	1,3 – 3,8
Globulina (g/dL)	3,50 $\pm$ 1,15 (38)	2,10 – 5,40	3,69 $\pm$ 1,47 (36)	2,1 – 5,9
Creatinina (mg/dL)	0,58 $\pm$ 0,24 (38)	0,24 – 1,20	0,57 $\pm$ 0,19 (36)	0,28 – 1,10
Uréia (mg/dL)	39,97 $\pm$ 6,78 (38)	26 – 58	39,17 $\pm$ 6,43 (36)	24 – 49
Ácido Úrico (mg/dL)	1,81 $\pm$ 0,67 (18)	1,0 – 3,2	1,82 $\pm$ 0,59 (36)	1,2 – 3,4
Triglicerídeo (mg/dL)	46,87 $\pm$ 18,73 (30)	22 – 100	54,21 $\pm$ 35,5 (29)	23 – 138
Sódio (mmol/L)	134,03 $\pm$ 4,67 (29)	125 – 143	134,57 $\pm$ 3,78 (30)	125 – 141
Potássio (mmol/L)	5,41 $\pm$ 1,15 (24)	3,9 – 7,9	4,79 $\pm$ 1,95 (21)	3,6 – 6,7
Glicose (mg/dL)	138,72 $\pm$ 30,17 (29)	72 – 193	114,57 $\pm$ 36,15 (30)	53 – 172
BILT (mg/dL)	0,08 $\pm$ 0,04 (37)	0,02 – 0,18	0,24 $\pm$ 0,3 (26)	0,10 – 0,89
BILD (mg/dL)	0,03 $\pm$ 0,02 (37)	0,01 – 0,10	0,02 $\pm$ 0,01 (21)	0,01 – 0,04
BILI (mg/dL)	0,06 $\pm$ 0,05 (37)	0,00 – 0,30	0,00 $\pm$ 0,10 (21)	0,01 – 0,01
Cálcio	8,19 $\pm$ 1,63 (16)	4,8 – 9,8	8,96 $\pm$ 1,13 (14)	6,7 – 11,0
GGT	3,47 $\pm$ 1,74 (19)	1 – 6	3,29 $\pm$ 0,9 (21)	2 – 5
Cloro	102,75 $\pm$ 1,75 (8)	101 – 106	105,11 $\pm$ 1,62 (09)	103 – 108

*Analisador bioquímico ARCHITECT C8000 (ABBOTT)

Tabela 2. Correlação entre diferentes fontes de parâmetros bioquímicos de ratos Wistar macho. (n) – número de animais.

Parâmetros (Unid.)	Ref. 1 (n)	Ref. 2 ^a	Ref. 3 (n)	Ref 4 (n)	UNIT (n)
FA / ALP(U/L)	124 $\pm$ 6,1 (19)	133,9 – 179,3	62 – 230 (163)	79 – 196 (21)	56 – 153 (29)
TGP / ALT (U/L)	51 $\pm$ 12,3 (42)	114,0 – 290,8	74 – 143 (164)	36 – 58 (23)	38 – 82 (33)
TGO / AST (U/L)	81 $\pm$ 11,7 (38)	129,0 – 148,1	18 – 45 (164)	81 – 180 (23)	61 – 210 (33)
Coolesterol (mg/dL)	87 $\pm$ 18,1 (51)	98,9 – 110,1	37 – 85 (165)	55 – 79 (11)	45 – 76 (22)
Proteína Total (g/dL)	—	5,5 – 10,4	5,2 – 7,1 (164)	5,4 – 6,6 (24)	4,0 – 6,9 (37)
Albumina (g/dL)	—	2,8 – 6,1	3,4 – 4,8 (164)	2,7 – 3,2 (24)	2,0 – 3,5 (38)
Globulina (g/dL)	—	2,6 – 4,3	1,5 – 2,5 (144)	2,7 – 3,5 (24)	2,10 – 5,40 (38)
Creatinina (mg/dL)	0,5 $\pm$ 0,07 (42)	0,3 – 0,6	0,2 – 0,5 (163)	0,44 – 0,64 (24)	0,24 – 1,20 (38)
Uréia (mg/dL)	48 $\pm$ 7,6 (35)	41,0 – 44,6	12,3 – 24,6 (164)	30 – 42 (24)	26 – 58 (38)
Ácido Úrico (mg/dL)	—	—	—	0,9 – 2,0 (24)	1,00 – 3,20 (18)
Triglicerídeo (mg/dL)	82 $\pm$ 24,7 (38)	110 – 174,8	20 – 114 (163)	42 – 160 (24)	22 – 100 (30)
Sódio (mmol/L)	—	—	142 – 151 (165)	135 – 144 (24)	125 – 143 (29)
Potássio (mmol/L)	—	—	3,8 – 5,5 (165)	4,2 – 6,4 (23)	3,9 – 7,9 (24)
Glicose (mg/dL)	108 $\pm$ 17,4 (64)	150 – 207,5	70 – 208 (165)	79 – 144 (24)	72 – 193 (29)
BIL T (mg/dL)	—	0,3 – 0,7	0,01 – 0,12 (165)	0,07 – 0,08 (24)	0,02 – 0,18 (37)
BIL D (mg/dL)	—	0,2 – 1,9	0,03 – 0,05 (109)	0,01 – 0,03 (24)	0,01 – 0,10 (37)
BIL I (mg/dL)	—	0,9 – 2,3	0,05 – 0,15 (139)	0,01 – 0,01 (24)	0,00 – 0,30 (37)
Cálcio	—	2,73 – 5,71	9,5 – 11,5	—	4,8 – 9,8 (16)
GGT	—	—	—	—	1 – 6 (19)
Cl	—	73,62 – 100,00	100 – 106	—	101 – 106 (19)

Ref 1: Dams et al (2006) [11].

Ref 2: Centro de Biotecnologia da FMUSP (2008) [15].

Ref 3: Laboratório Charles River (2008) [16].

Ref 4: Melo et al (2012) [8].

— Valores não realizados.